

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN-MANAGUA FACULTAD DE
CIENCIAS MÉDICAS
HOSPITAL ESCUELA ANTONIO LENIN FONSECA
SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA**



**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
OTORRINOLARINGOLOGÍA**

**DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN DEL GENOTIPO DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO
EN PACIENTES CON PAPILOMATOSIS LARÍNGEA RECURRENTES ATENDIDOS EN
EL HOSPITAL ANTONIO LENIN FONSECA EN EL PERÍODO COMPRENDIDO
ENERO-DICIEMBRE 2017**

AUTOR:

Dra. Dafne E. Díaz Gómez

Residente de III año de Otorrinolaringología

TUTOR:

Dr. Israel Amador Z.

Especialista en Otorrinolaringología

Alta Especialidad en laringología y fonocirugía

DEDICATORIA

Porque todo Honor, toda Honra, toda Gloria le pertenece a Dios Todopoderoso, mi Padre celestial, Jesús mi fiel amigo.

A mi esposo y a mis padres quienes son una bendición en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi Rey y Padre celestial quien es mi fortaleza y mi porción para siempre. Eternamente susurrándonos cuanto Él nos Ama.

A mi Amado esposo, por darme todo tu Amor, por acompañarme con fidelidad, comprensión y por el apoyo incondicional en cada paso de esta etapa.

A mi mama y papa por sostenerme en oración, consejos y ser los mejores amigos.

A los tutores de esta tesis y al equipo del laboratorio de Biología molecular del POLISAL UNAN-Managua por toda su guía y apoyo.

A todos mis maestros de otorrinolaringología a quienes aprecio mucho, quienes fueron fuente de aprendizaje durante mi residencia. Gracias por su vocación de enseñar a las siguientes generaciones.

A cada uno de mis compañeros con quienes conviví y compartí la residencia de ORL, gracias por vivir este reto cada día con esmero y dedicación.

A los pacientes del Hospital Antonio Lenin Fonseca atendidos durante mi residencia que fueron parte de mi enseñanza.

OPINIÓN DEL TUTOR

En nuestro servicio recibimos pacientes, niños y adultos, que cursan con Papilomatosis laríngea recurrente, enfermedad asociada al virus de papiloma humano la cual requiere a menudo múltiples intervenciones quirúrgicas ya que se caracteriza por la frecuente recurrencia lo cual lleva a un costo social y económico alto. Esta enfermedad no solo afecta al paciente significativamente, también supone una gran carga económica para sus familias y la sociedad en general.

Actualmente, aunque varias terapias simultáneas adyuvantes y combinadas han sido estudiado no existe una cura para la Papilomatosis laríngea, debido a la histopatología características del papiloma y la complejidad de la anatomía de la laringe, por lo que el tratamiento está dirigido a prevenir el compromiso de la vía aérea superior y mejorar la función vocal a la vez que se preservan los tejidos de la laringe.

Considero que la tesis presentada “Detección del genotipo del virus del papiloma humano en pacientes con Papilomatosis laríngea en el servicio de otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenin Fonseca en el periodo comprendido de enero a diciembre 2017”, será útil para conocer la prevalencia de los genotipos que más afecta a nuestra sociedad y en un futuro estimar el impacto de la introducción de la vacuna cuadrivalente para la prevención de la Papilomatosis laríngea recurrente.

Dr. Israel Amador Z.
Otorrinolaringólogo
Alta especialidad laringología y fonocirugía.

RESUMEN

INTRODUCCION. El conocimiento sobre el virus del papiloma humano (VPH) y la distribución del genotipo en la Papilomatosis laríngea recurrente es esencial para evaluar la prevalencia en nuestro medio. El propósito de este estudio fue describir la detección y tipificación del genotipo del virus de papiloma humano en pacientes con Papilomatosis laríngea atendidos en el Hospital Antonio Lenin Fonseca en el período comprendido enero-diciembre 2017

METODO. Se realizó un estudio de tipo descriptivo, observacional, prospectivo, de corte transversal en 24 pacientes a quienes se les realizó microcirugía laríngea por el servicio de Otorrinolaringología del Hospital Escuela Antonio Lenin Fonseca (enero-diciembre 2017) la muestra fue procesada mediante PCR QIAamp® DNA Mini Kit en el laboratorio de Biología molecular del POLISAL UNAN-Managua.

RESULTADO. Del total de 24 casos estudiados predominaron individualmente el VPH tipo 6 con un 21% de los casos (5 pacientes) en primer lugar, el VPH tipo 11 con un 17% de los casos (4 pacientes) en segundo lugar predominaron las coinfecciones múltiples de VPH 6 y VPH 11 con un total de 42% de los casos.

CONCLUSION. Las coinfecciones del VPH 6 y VPH 11 en un 42% de los casos son las más frecuentes. No se encontraron infecciones de VPH tipo 16 ni de VPH tipo 18. Predominaron los VPH de Bajo Grado con un 79% de casos. Los VPH de aparición juvenil como coinfección del VPH 6 y VPH 11 son las más importantes en nuestra población atendida.

INDICE

I. INTRODUCCION.....	7
II. ANTECEDENTES.....	9
III. JUSTIFICACION.....	13
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
V. OBJETIVOS.....	15
VI. MARCO TEORICO.....	16
VII. DISEÑO METODOLOGICO.....	25
VIII.RESULTADOS.....	32
IX. ANALISIS DE RESULTADOS.....	37
X. CONCLUSIONES.....	43
XI. RECOMENDACIONES.....	44
XII. BIBLIOGRAFIA... ..	45
XIII.ANEXOS.....	48

I. INTRODUCCION.

La Papilomatosis laríngea recurrente es la neoplasia benigna de laringe más común que puede extenderse hacia las cuerdas vocales verdaderas y pliegues vocales falsos aunque también se encuentran en otras partes de la laringe y aparato digestivo superior. Se descubren lesiones esofágicas en 2% al 15% de los casos¹, también puede afectar la tráquea y los pulmones.² Debido a su elevado potencial de recurrencia, localización múltiple especialmente en laringe y conocimiento incompleto del mecanismo patogénico, el índice de prevalencia de la enfermedad se mantiene elevado y a través del tiempo se ha convertido en un verdadero problema terapéutico³

Aunque los casos en todas las edades se han descrito, la distribución de la Papilomatosis laríngea es bimodal, Papilomatosis laríngea recurrente de inicio juvenil que ocurre en niños y adolescentes menores de 18 años, y el tipo adulto en mayores de 18 años. El comportamiento clínico se caracteriza principalmente por disfonía, tos, estridor y disnea progresiva, en casos graves de obstrucción intensa, puede provocar la aparición de insuficiencia respiratoria que muchas veces compromete la vida del paciente.

El virus del papiloma humano (VPH) es el agente etiológico de estas lesiones. En una revisión de 688 casos de Papilomatosis laríngea recurrente reportados en todo el mundo hasta 1998, el ADN del VPH se detectó en 524 casos (76.2%) (G Syrjanen S. J Clin Virol 2005) pero otros estudios han informado prevalencias de hasta 100% (Giuliano AR, y cols. Vaccine 2008). Más de 180 genotipos de VPH se han identificado, de los cuales VPH 6 y VPH 11 son la causa más frecuente de Papilomatosis laríngea recurrente, aunque otros tipos también han sido implicados.

En 1923, Ullmann describió por primera vez la etiología viral de la Papilomatosis laríngea, 28 años más tarde confirmado por microscopía electrónica, hibridación in situ y técnicas de reacción en cadena de polimerasa (PCR). Hoy en día el diagnóstico de laboratorio de las infecciones por VPH y

¹ Alarcón L.Arias J. Arce C, Lee Ch, Torres A. Yoffe Y, et al. Papilomatosis Laríngea Recurrente con transformación a carcinoma pulmonar. Cirug. Parg. 2013;37 (1):27-29.

² Rimel FL, Shoemaker DL, Pou AM, Jordan JA, Post CJ, Ehrlich GD, Pediatric respiratory papillomatosis: prognostic role of viral subtyping and cofactors. Laryngoscope. 1997; 107: 915-918.

³ Derkay CS, Darrow Dh. Recurrent respiratory Papilomatosis of the larynx: Current diagnosis and treatment. American Academy of Otolaryngology Head and Neck Surgery. Instructional Courses. 1999

su tipificación es dependiente de técnicas moleculares como la hibridación de ADN o amplificación de ácidos nucleicos. La PCR se puede utilizar para la detección e identificación de varios tipos de VPH. Hasta la fecha la detección y tipificación del VPH y sus genotipos por métodos moleculares no se ha realizado en esta unidad de salud. Por medio de este estudio se realizó la detección de los

II. ANTECEDENTES

La Prevalencia estimada de la Papilomatosis en España es baja, con 6-7 casos de cada 100.000 pacientes atendidos en un servicio de otorrinolaringología porcentaje coincidente con la revisión de autores españoles en los últimos 100 años.⁴ Frente a prevalencias más altas en países de clima frío, como Alemania (Biesalski: 5-6.7% de los niños estudiados en ORL), Dinamarca (Bornholt: 0.6/100.000 habitantes/año) y el norte de EE.UU. (Derkay et al 4,3/100.000 niños y 1,8/100.000 adultos).

Se realizó un Estudio en el Hospital General Universitario de Alicante España titulado Papilomas y Papilomatosis para mostrar la experiencia con microcirugía láser CO2 como tratamiento de la Papilomatosis laríngea entre 1995 y 2010. Sus resultados demostraron que es más prevalente en el sexo masculino en un 65.5% de casos, con leve predominio de única localización laríngea frente a multilocalización de lesiones. Se detectó ADN vírico del VPH en el 75.8% de los casos, predominaron los subgrupos 6 y 11 entre otros. Presentaron recidiva el 44.8% de los casos, con una media de recidiva de 2-3 episodios por paciente. Se encuentran en remisión (sin recidiva en últimos 2 meses) el 20.7% de casos; en aclaramiento (sin recidiva aparente en últimos 3 años) el 34.5% y en curación (sin recidiva en últimos 5 años) el 41.3%. Presentó malignización un caso.⁵

Se realizó un estudio en el Departamento de Otorrinolaringología de la Universidad of the Free State Bloemfontein, South Africa sobre la Papilomatosis Laríngea Recurrente Juvenil y los tipos de VPH y determinar la agresividad de la enfermedad, su diagnóstico y pronóstico. Sus resultados en 19 pacientes revelaron que predominaron los Tipos VPH 6 y VPH 11. El VPH11 es más agresivo que el VPH6.⁶

En el laboratorio de Virología Molecular, en Sofía Bulgaria se realizó un estudio para identificar el ADN-VPH en pacientes juveniles con Papilomatosis laríngea recurrente. Se estudiaron 23 pacientes y sus resultados revelaron que predominó el VPH 11 en un 61.9% de los casos y VPH 6 en el 23.8%. Doble Positividad de VPH 6 y VPH 11 se encontró en el 14.3% de los casos. Sus

⁴ Henríquez Alarcón M, Altuna Mariezkurrena X, Golburu Minués M, Vea Orté JC, Cama Arrioga JJ, Algaba Guimerá J. Papilomatosis Respiratoria Recurrente. Anales ORL Iver.Amer 2003; 30(2):179-91.

⁵ Castillo G Carmen, et al colbs. Papiloma y Papilomatosis laríngea. Tratamiento con láser CO2.Servicio de Otorrinolaringología, Hospital General Universitario, Alicante, España.2010.

⁶ R.Y Seedat,M.Thiukane,A.C.Jansen y colbs. HPV Types causing juvenile recurrent laryngeal papillomatosis in South Africa. University of the Free State. Bloemfontein,South Africa.2009

conclusiones son que la Papilomatosis Laríngea recurrente es mucho más agresiva con el VPH 11 en las infecciones del tracto respiratorio superior.⁷

En la Escuela de Medicina de la Universidad de Antioquía Colombia el Grupo de Infecciones y Cáncer realizó un estudio para detectar el Genotipo del VPH en la Papilomatosis laríngea recurrente en un total de 189 pacientes diagnosticados en un período de 1985-2009. El 36.1% de los casos predominó en los menores de 12 años y en la mayoría de los adultos predominó el Sexo Masculino. El VPH 6, 11 y 16 se presentaron en el 69% de los casos, El 9.3% de los casos (12 casos) presentaron múltiples infecciones, 8 de ellos fueron con VPH 6 y 11 positivos.⁸

En el Hospital Universitario de Oslo, Noruega, se realizó un estudio de Papilomatosis Respiratoria Recurrente para identificar el Genotipo de VPH y Grado de Alto Riesgo de Neoplasia Laríngea entre 1987-2009. En un total de 238 pacientes la infección estuvo presente en el 8.6% de los casos no encontrando asociación significativa con el desarrollo de Carcinoma Laríngeo de Alto Grado. Predominando los VPH 6 VPH 11 en la mayoría de los pacientes. Predominó una mayor incidencia en niños y adultos. Con una edad media para niños de 4 años y para adultos de 34 años.⁹

En el Hospital for Sick Children de Toronto, Ontario Canadá se realizó un estudio sobre la Epidemiología de la Papilomatosis Respiratoria Recurrente Juvenil, se calculó la incidencia y prevalencia de Enero 1994 a Diciembre 2007, se identificaron 243 casos con una incidencia 0.24 por 100.000, predominaron los menores de 14 años, con una prevalencia de 1.11 en los niños menores.¹⁰

Se realizó en el Hospital Vigo de España una revisión de 20 años en el período comprendido de 1990-2010 sobre la Papilomatosis laríngea Recurrente Juvenil y Adulto. Fue un estudio descriptivo donde se encontraron 37 casos con una incidencia de 4.35 por millón de habitantes, edad promedio de 49 años, predominó el sexo masculino con 81.1% de casos, 71% de casos con tabaquismo,

⁷ Pavel Draganov, Spiridon Todorov, Ivan Torodov y cols. Identification of HPV DNA in patients with juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. National Center of Infectious and Parasitic Disease, Sofia, Bulgaria. 2005.

⁸ Sanchez Gloria Msc, PhD and Cols. Human Papillomavirus genotype detection in recurrent respiratory Papillomatosis in Colombia. Infections and Cancer Group, School of Medicine, University of Antioquia, Colombia. 2011.

⁹ Turid Omland, MD and cols. Epidemiological Aspects of Recurrent Respiratory Papillomatosis: A Population-Based Study. Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck, Surgery, Oslo University Hospital. Oslo, Norway. 2012.

¹⁰ Campisi Paolo, Msc, MD, FRCS, FAAP and cols. The Epidemiology of Juvenile Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis Derived From a Population Level National Database. Canadian Juvenile Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis Working Group. Toronto, Ontario-Canada. 2010.

51.4% fueron sintomáticos y 33.3% con afectación de las cuerdas vocales. El 51.5% histológicamente compatible con VPH tipo 11. En un total de 47.2% de los casos presentaron más de 5 intervenciones por paciente, 18.9% fueron malignos.¹¹

En el Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Jalisco, México se realizó un estudio para la Identificación Molecular de los Tipos de VPH en la Papilomatosis laríngea recurrente. Sus resultados reflejan que es la más frecuente en la niñez, con disfonía, asfixia y está asociado al VPH 6 y VPH 11 evolucionando con los casos más severos. En los 47 pacientes atendidos se encontraron también los VPH tipos 16, 31, 33, 35 y 39. No se encontró ninguna asociación significativa entre la agresividad clínica y el tipo viral o combinaciones.¹²

Se realizó un estudio en el Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Universitario de Caracas en 15 pacientes entre 3 y 20 años con diagnóstico de Papilomatosis Laríngea Juvenil para detectar los tipos de VPH. Los resultados son que en el 53% de los casos, se identificaron los genotipos de VPH 6 y VPH 11, predominando en los niños en la primera década de la vida. No se detectó ninguno de los otros genotipos investigados ni se evidenció coinfección viral.¹³

Se realizó un estudio en Rusia sobre la prevalencia del virus del papiloma humano en 26 niños entre 1 año-15 años. En todos ellos se detectó el VPH 11, 7 pacientes con VPH 6, 4 niños con VPH 6 y VPH 11. Los Tipos 16 y 18 no fueron detectados. Se identificó que el VPH 11 es más agresivo que el VPH 6.¹⁴

Se realizó un Estudio realizado por el Hospital Escuela Universitario de Honduras sobre el VPH y las afectaciones de la orofaringe, sus resultados revelaron que predominaron los VPH-6 y VPH 11, con mayor afectación del área rural, predominio del sexo masculino. El sitio anatómico más afectado fue la glotis. Predominando el VPH 11 y no hubo coinfección de dos o más genotipos (Estrada Carmen and colbs).

Se realizó un Estudio en el Red Cross War Memorial Children`s Hospital de South Africa en el período entre 1982-1988 en 20 niños en un rango entre 1-10 año sobre el Tipo de VPH y

¹¹ Gutiérrez Zamalloa Shirley and Lorenzo Ana Isabel. Recurrent Laryngeal Papillomatosis, Juvenile and Adult: 1990-2010. Complejo Hospital Universitario de Vigo (CHUVI). España. 2011.

¹² Peñaloza-Plascencia M and colbs. Molecular identificación of 7 human papillomavirus types in recurrent respiratory papillomatosis. División de Medicina Molecular. Centro de Investigaciones Biomédica de Occidente, Jalisco-México. 2000.

¹³ Alford de Bello M and G Caipe R. Tipificación del Virus del Papiloma Humano en Papilomatosis Laríngea Recurrente Juvenil.

¹⁴ Obchinnikov IuM and Kiselev VI and colbs. Prevalence of human papilloma virus types and their influence on the course of the disease in children suffering from recurrent respiratory papillomatosis. Vestn Otorinolaringol. 2004.

Papilomatosis laríngea Recurrente. Los resultados revelaron que en el 75% de los casos (15 niños) se identificó el VPH tipo 11 y en 5 casos (25) el VPH tipo 6. No se presentaron infecciones mixtas. Sus resultados revelan que el VPH-6 es más agresivo que el VPH-11.¹⁵

Se realizó un estudio para determinar la distribución de edad en la Papilomatosis Respiratoria Recurrente en 12 Hospitales Europeos publicado por la Revista de Otorrinolaringología de la Sociedad Holandesa en el período comprendido entre 1998-2012. Se incluyeron 639 pacientes. La Distribución por edad resultó entre las edades medias de 7 años, 35 años y 64 años. Sus resultados reflejan tres picos de edad, que son: pediátrico, edad adulta y un pico en la tercera edad (64 años).¹⁶

A nivel nacional no se encontraron investigaciones relacionadas al tema de la presente tesis, sin embargo, existen estudios realizados en años anteriores sobre Papilomatosis laríngea recurrente realizados en nuestra unidad de salud como Grados de displasia en la Papilomatosis laríngea en los pacientes atendidos en el servicio de ORL 2012 y Ventajas de la papilomectomía asistida con endoscopio de 0 grados en relación a papilomectomía convencional 2014.

¹⁵ Prescott C.A.J. Relationship between the clinical course and HPV typing of recurrent laryngeal papillomatosis. The Red Cross War Memorial Children's Hospital Experience 192-1988. South Africa. 2010.

¹⁶ San Giorgi MR and cols. Age of onset of recurrent respiratory papillomatosis: a distribution analysis. British Association of Otolaryngologists Nederlandse Vereniging voor Keel-Neus-Oorheekunde en Heekunde van het Hoofd-Halsgebied. 2005

III. JUSTIFICACION

La Papilomatosis laríngea recurrente se considera una neoplasia benigna, sin embargo tiene implicaciones clínicas que pueden ser desde leves a severas principalmente por procesos obstructivos que pueden llevar a la muerte y en otros casos pueden evolucionar a procesos oncológicos.

La mayoría de los casos requieren cirugías múltiples durante toda la vida, para extirpar los papilomas recurrentes y, en algunos casos, el mal pronóstico se debe a la inaccesibilidad de la enfermedad pulmonar distal y la afectación traqueal. Actualmente, no hay medidas terapéuticas que puedan permitir completar remisión.

El conocimiento de los genotipos asociados a Papilomatosis laríngea y las variables que influyen en esta patología como la edad de inicio de cada paciente podría ayudar a diferenciar entre la efectividad real de las modalidades del tratamiento y el curso natural, como a predecir mejor un curso clínico de la enfermedad.

En América Latina hay muy pocos informes de encuestas que describan la distribución del VPH en Papilomatosis laríngea recurrente. Actualmente en Nicaragua no hay estudios que nos permitan verificar la detección del VPH y la tipificación del genotipo en la Población Nicaragüense afectada con Papilomatosis laríngea recurrente, así como tampoco en los pacientes atendidos en el Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenín Fonseca, por lo que consideramos pertinente la realización de la presente Investigación Científica.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según la Organización Mundial de la salud (OMS) y la International Agency for Research on Cancer (Liu et al,2013) la Papilomatosis laríngea recurrente es la única enfermedad secundaria a la transmisión perinatal por VPH 6 y VPH 11, estos genotipos representan la mayoría de casos. El VPH 11 ocurre con mayor frecuencia (50% -100% en casos aislados). VPH tipos 16, 18, 31 y 33 también se han detectado, aunque raramente. Aunque es una afectación rara se considera la neoplasia laríngea más común en los niños y la segunda causa más común de trastorno de la voz pediátrica. La carga del número de cirugías lleva a un costo socioeconómico alto y el pronóstico incierto afecta la calidad de vida del paciente.

Con este estudio, se pretende determinar la presencia del VPH y los genotipos más frecuentes que afectan a pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente del servicio de Otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenin Fonseca mediante la técnica de PCR además de describir sus constantes biológicas, número de intervenciones, criterios clínicos y anatómicos desde su diagnóstico.

Es por ello, que se aspira a : **Describir la detección y la tipificación del genotipo de VPH en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente, haciéndonos la siguiente pregunta**

¿Cuáles son los genotipos según su tipificación y detección que están presentes en los pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea recurrente en el servicio de Otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenín Fonseca?

V. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la detección y tipificación del genotipo del Virus del Papiloma Humano en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente en el servicio de otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenin Fonseca.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Identificar las constantes biológicas de los pacientes en estudio.
2. Mencionar los criterios clínicos al diagnóstico de pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.
3. Describir la localización anatómica de las lesiones papilomatosas al diagnóstico.
4. Enunciar el número de intervenciones quirúrgicas desde el diagnóstico hasta la actualidad.
5. Describir los genotipos de VPH más frecuentes en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

VI. MARCO TEORICO.

6.1. Generalidades de la Papilomatosis laríngea.

La Papilomatosis laríngea es el tumor benigno de la laringe más frecuente en el niño, aunque también puede aparecer en la edad adulta. Sus aspectos clínicos e histológicos se conocen y están bien caracterizados, pero persisten interrogantes relativos a los factores que determinan la aparición de la enfermedad y su evolución, particularmente imprevisible. Algunas formas pueden ser muy agresivas y propagarse a las vías respiratorias inferiores o incluso malignizarse.

Se caracteriza por el crecimiento de lesiones exofíticas de las superficies de la mucosa de las vías aerodigestivas, con clara predilección por la laringe. La disfonía es el síntoma principal, aunque algunos pacientes no la presentan sino hasta que está totalmente disfónicos o sufren obstrucción de la vía aérea.

La ablación quirúrgica sigue siendo la base de la terapéutica, pero en general es una medida temporal para preservar la fonación y evitar la asfixia. La mayor parte de los niños muestran remisión espontánea, pero la edad y la gravedad de la enfermedad antes de que esto suceda son imprevisibles.

Las lesiones se localizan preferentemente en la endolaringe. Las primeras suelen aparecer sobre las cuerdas vocales o en los pliegues vocales falsos. Durante la evolución, los papilomas pueden extenderse a toda la laringe, sobrepasarla, e invadir la hipofaringe y el árbol traqueobronquial. En ocasiones se produce la siembra de papilomas en los labios, el vestíbulo nasal, la cara posterior y el borde libre del velo del paladar, o los pilares. Todas estas zonas poseen características histológicas comunes: se trata de uniones entre dos tipos de epitelio que, salvo en el caso de los labios, consisten en un epitelio escamoso y un epitelio ciliado.

ANATOMOPATOLOGÍA.

Desde el punto de vista macroscópico, los papilomas se presentan como grupos de elementos en racimos de 0,5 mm, grisáceos, blanquecinos o rosados. Las lesiones pueden ser pediculadas o sésiles. A medida que la enfermedad evoluciona, el aspecto macroscópico puede cambiar debido a

la presencia de fibrosis y cicatrices laríngeas.

Desde el punto de vista histológico, los papilomas aparecen como proyecciones de epitelio escamoso estratificado queratinizado, que cubre un núcleo fibrovascular. Con frecuencia está ausente la maduración epitelial normal de los tejidos epiteliales y se ve una zona basal hiperplásica. También suelen encontrarse disqueratosis o paraqueratosis, así como los coilocitos, que aparecen como células vacuoladas con un citoplasma claro e indican Papilomatosis laríngea recurrente de origen viral. El tumor tiene aspecto arborescente. En ocasiones existen atipias celulares, lo que dificulta el diagnóstico diferencial con un epiteloma. Las atipias son tanto más numerosas cuanto más extendida está la enfermedad y más grave es su curso.

ETIOLOGÍA.

Se trata del virus de la familia de los papovaviridae. La infección por VPH ha sido estudiada desde finales del siglo XIX y se han descrito más de 180 diferentes tipos del virus, dentro de los cuales los más comúnmente relacionados con compromiso de la vía aérea son el 6 y el 11. Estos dos tipos se han considerado los responsables de la Papilomatosis laríngea recurrente hasta en un 90%. Se han asociado los virus 16 y 18, con un mayor riesgo de malignización en la vía aérea, incluyendo los genotipos 31 y 45.¹⁷. Cuando el VPH infecta las células basales de la mucosa, puede hacer replicación viral activa o permanecer latente, sin causar alteraciones ni cambios microscópicos epiteliales. La situación no solo radica en visualizar las lesiones. En la actualidad, para detectar el ADN viral se emplean técnicas muy sensibles, basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Un estudio en PCR demostró la presencia de ADN viral en mucosas de apariencia sana en un 20% de los pacientes. Un grupo de biopsias de especímenes de mucosa laríngea post mortem fueron positivas en el 25% de los casos. Las lesiones subepiteliales en las cuerdas vocales como nódulos y pólipos tenían ADN de VPH 6 y 11 en 23% de ellas. En tumores sin papilomas clínicos preexistentes el ADN viral se detectó por PCR en 8-54% de los casos.

En los papilomas laríngeos se detecta VPH de los tipos 6 u 11 más frecuentemente. Los virus del subgrupo VPH 6-11 comparten un 85% del código genético y son poco cancerígenos, comparados con los virus de los subgrupos 16,18, 31 y 34 de alto riesgo.

¹⁷ Xue Q, Wang H, Wuanj J. Recurrent Respiratory Papillomatosis: An overview. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010; 29(9):

Los virus VPH 6 y VPH 11 se detectan también en los condilomas genitales, por lo que desde hace mucho tiempo se postula la hipótesis de la contaminación infantil por condilomas del cuello uterino durante la gestación o en el momento del parto, ya que la aparición habitual de la Papilomatosis laríngea infantil en la primera infancia lleva a sospechar una infección neonatal. Aunque la transmisión del VPH al niño a partir de los condilomas genitales de su madre es posible, se trata de un fenómeno excepcional. La contaminación intrauterina por vía transplacentaria o hematógena es posible, ya que se ha detectado ADN del VPH en la sangre del cordón umbilical de niños nacidos de madres con condilomas asintomáticos, así como en el líquido amniótico de madres infectadas.

Recientemente se ha reavivado el interés por la hipótesis de la causa hormonal, al comprobarse que el indol-3-carbinol, compuesto que participa en el metabolismo de los estrógenos, resulta eficaz en algunas formas de Papilomatosis laríngea. La patogenia del VPH estaría relacionada, en parte, con el hecho de si el virus se incorpora al ADN genómico del huésped o si existe como un epiteloma. Los cofactores permisivos que pueden predisponer más a unos niños a sufrir infección clínica incluyen alteración de las mucosas, defectos del sistema inmunitario y alotipos específicos de HLA. La Papilomatosis laríngea no se considera una enfermedad contagiosa: no se han descrito epidemias ni casos familiares (hermanos y hermanas, o cónyuges). No deben tomarse medidas de exclusión de la escuela o de cualquier otra colectividad para los niños con Papilomatosis laríngea.

CLINICA

Ya que el epitelio que recubre las cuerdas vocales es de tipo escamoso y que el VPH presenta predilección por éste, es el sitio más frecuentemente afectado, por lo cual es de esperar que el síntoma más frecuente sea la disfonía. De igual manera, el efecto obstructivo que tiene la aparición de estas lesiones en la glotis, puede generar estridor, siendo éste el segundo síntoma en frecuencia que obligan a una evaluación minuciosa de la vía aérea

La obstrucción parcial de las vías respiratorias puede manifestarse con estridor, taquipnea, tiraje supraesternal y/o intercostal, aleteo nasal o cianosis peribucal, lo que denota grados más relevantes de afección de las vías respiratorias. A la auscultación de la laringe puede escucharse un

estridor inspiratorio o bifásico si compromete la subglotis. Aunque la laringe es el sitio más común de afección, las lesiones en nariz o cavidad oral sugieren fuertemente Papilomatosis laríngea en un niño disfónico o con estridor. La laringe puede explorarse mediante un espejo laríngeo o un nasofibrolaringoscopia. El aspecto de la laringe es suficiente para llegar al diagnóstico.

El estudio anatomopatológico confirma la impresión clínica y permite tipificar el tipo de VPH en la muestra en fresco por reacción en cadena de la polimerasa, o se somete a la muestra a congelación con nitrógeno líquido y se envía a un laboratorio que efectúe la tipificación.¹⁸ La biopsia y la determinación exacta de la extensión de la Papilomatosis laríngea se realizan en el curso de una microcirugía de laringe bajo anestesia general, durante la cual se inicia el tratamiento.

Existen dos formas de presentación clínica, la juvenil y la adulta definidos al momento de aparición en el curso de la vida. No existe un límite de edad para considerarse Papilomatosis de inicio en el adulto, pues dependiendo del autor se establecen rangos de edad entre los 13 y 20 años. La primera forma es más agresiva y se presenta como lesiones exofíticas multifocales en las cuerdas vocales pero se pueden extender hacia la región supraglótica, subglótica y traqueal. Se asocia a transmisión vertical durante el paso por el canal del parto, a través de la placenta y el líquido amniótico contaminado.¹⁹ Los neonatos, hijos de madres con condilomatosis activa, tienen un riesgo de infección 231 veces mayor que un neonato de madre sana. Durante el trabajo de parto prolongado (más de 10 horas) y la ruptura de membranas (2 horas antes del parto) de madres con VPH, el neonato tendría una probabilidad mucho mayor de exposición a la infección viral. El diagnóstico de la enfermedad en pacientes menores de 3 años se ha asociado a un peor pronóstico requiriendo un mayor número de procedimientos quirúrgicos. La segunda forma tiene un curso menos agresivo y se presenta más frecuentemente en adultos de sexo masculino, con una relación de 4:1.

¹⁸ Green G.E. Bauman NM, Smith RJH. Patogenia y Tratamiento de la Papilomatosis respiratoria recurrente de inicio juvenil. *Clinicas Otorrinolaringológicas de Norteamérica*. 2000 Vol 1: 179-197.

¹⁹ Uloza V. The course of laryngeal papillomatosis treated by endolaryngeal microsurgery. *Eur Arch Otorhinolaryngology*. 2000; 257: 498–501.

6.2 BASES MOLECULARES Y VIRALES DE LA PAPILOMATOSIS.

VIROLOGÍA DEL VPH

El VPH es un virus de ADN de cápside icosaédrica en la familia Papovaviridae. No contiene envoltura y tiene un genoma de ADN bicatenario que contiene aproximadamente 8000 pares de bases. El VPH tiene una propensión a infectar las células epiteliales. Aunque solo se han asociado ciertos genotipos a Papilomatosis laríngea recurrente se han identificado más de 180 genotipos de VPH, que varían en las especies que infectan y en el tejido epitelial que prefieren. El VPH infecta las células madre dentro de la capa basal de la mucosa. Los tipos de VPH que afectan los tractos de la mucosa se pueden dividir en general en alto riesgo y tipos de bajo riesgo basados en su capacidad de causar transformación maligna del epitelio celular. Los tipos de alto riesgo VPH 16 y VPH 18 son los más comúnmente asociados con cánceres de cuello uterino, así como un subconjunto de carcinomas orofaríngeos. VPH 6 y VPH 11 se consideran tipos de bajo riesgo, que típicamente no están asociados con malignidad, aunque la transformación en la Papilomatosis ha sido descrita. La tasa de transformación maligna es menos del 1%.

GENOMA DEL VPH

El genoma del VPH consiste en 8 genes que codifican E1, E2, E4, E5, E6, E7, L1 y L2. Las proteínas L1 y L2 se transcriben tarde en el ciclo de vida viral y son responsables de producir la cápside viral. La designación E se refiere a genes que se transcriben temprano en el ciclo de vida viral y son responsables de la replicación del genoma viral utilizando la maquinaria celular del huésped. Estos genes tempranos también codifican para las oncoproteínas potentes que interactúan con muchas proteínas celulares del huésped y pueden causar actividades transformadoras e interrumpir el crecimiento y la función celular. Las más estudiadas son las proteínas E6 y E7, que se ha demostrado que previenen la apoptosis y alteran la función del ciclo celular. Se dirigen a las proteínas supresoras de tumores p53 y retinoblastoma, respectivamente.

El supresor tumoral de retinoblastoma (pRb) y las proteínas de bolsillo relacionadas, p107 y p130, son subunidades reguladoras importantes de los miembros de la familia de transcripción E2F, que

controlan la diferenciación y proliferación celular.²⁰ La capacidad de E6 y E7 para interrumpir las funciones de p53 y PRB, respectivamente, es por lo tanto necesario para promover la proliferación y diferenciación de desacoplamiento. Estas interacciones celulares, a su vez, son capaces de mantener los queratinocitos diferenciadores en un estado de replicación del ADN, que es esencial para la progresión del ciclo de vida del VPH. Sin embargo, estos mismos procesos pueden conducir a la transformación de la célula cuando no se regula, como ocurre después de la integración física de genomas virales de VPH de alto riesgo en un cromosoma huésped.

MECANISMOS MOLECULARES

Aunque existen estudios limitados que abordan la fisiopatología molecular de los tipos de VPH implicados en la Papilomatosis laríngea, existe una gran cantidad de datos epidemiológicos y moleculares sobre los tipos de VPH de alto riesgo implicados como causantes de cánceres de cuello uterino y un subconjunto de cánceres de cabeza y cuello²¹. Los carcinomas de cuello uterino albergan genomas de VPH de alto riesgo integrados dentro de cada célula tumoral y continúan expresando los oncogenes virales E6 y E7. Las proteínas E6 y E7 de alto riesgo modifican los patrones de expresión y las actividades de muchos genes y proteínas celulares para promover la proliferación celular. Se ha demostrado que las proteínas de alto riesgo E6 y E7 son necesarias para la inmortalización eficiente de los queratinocitos humanos.

Las proteínas E6 y E7 de los VPH de bajo riesgo no parecen expresar actividades transformadoras de células que sean comparables con las de alto riesgo. También es bien sabido que la capacidad de promover la degradación de p53 está restringida a los tipos de VPH de alto riesgo. A pesar de estas diferencias en la función, las proteínas E6 y E7 de bajo riesgo comparten una homología significativa con las proteínas de alto riesgo y conservan muchas de las mismas capacidades que proporcionan mecanismos redundantes para promover la proliferación celular, interrumpir la apoptosis y desacoplar la diferenciación celular.

²⁰ Munger K, y cols. The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* 1989;63(10):4417–21.

²¹ Coglian V y cols. Carcinogenicity of human papillomaviruses. *Lancet Oncol* 2005;6(4):204.

RESPUESTAS INMUNES

Otra área de interés molecular es la compleja respuesta inmune innata y adaptativa hecha por el huésped con respecto a la infección por VPH 6 y VPH 11. Todavía no está claro por qué solo una pequeña fracción de las personas expuestas al VPH desarrolla Papilomatosis laríngea recurrente, y por qué aún menos desarrollan un curso severo de la enfermedad. Una explicación propone que los pacientes con Papilomatosis laríngea no pueden producir una respuesta eficaz de células T específicas de VPH, como lo muestra un subconjunto de $CD8^+$ alterado y el desequilibrio de citoquinas $T_H 1 / T_H 2$ encontrado en estos pacientes. Estudios adicionales han revelado que VPH 11 E6 distorsiona la expresión de IL-10 e IFN- γ que puede explicarse por una disfunción de células dendríticas inducida por E6 en estos pacientes que cambia su respuesta inmune específica de VPH hacia la expresión de IL-10.²² La evidencia adicional de una respuesta inmune disfuncional por pacientes con Papilomatosis es el hallazgo de que el transportador asociado con la presentación de antígeno (TAP-1) está regulado negativamente junto con el antígeno de clase I del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) en los papilomas benignos. La expresión de la proteína TAP-1 se correlacionó inversamente con la frecuencia de recurrencia de la enfermedad. Estos hallazgos sugieren que el VPH puede evadir el reconocimiento inmune disminuyendo la expresión de la superficie celular del MHC a través de la regulación negativa de TAP-1.

6.3 DIAGNOSTICO

Las técnicas disponibles son técnicas morfológicas para la detección del virus (citología, histopatología, incluso técnicas de microscopía electrónica). Técnicas basadas en la detección del ADN viral mediante hibridación o amplificación. Técnicas de biología molecular: se usan para la detección y tipificación de VPH. También se recurre a ellas para determinar la presencia de virus en las lesiones premalignas o malignas ya tratadas, lo cual constituye un factor de riesgo de recurrencia.

²² DeVoti JA y cols. Failure of gamma interferon but not interleukin-10 expression in response to human papillomavirus type 11 E6 protein in respiratory papillomatosis. Clin Diagn Lab Immunol 2004;11(3):538–47.

HIBRIDACIÓN IN SITU DEL ADN VIRAL

La hibridación in situ (HIS) es una técnica de amplificación que utiliza sondas de ADN marcadas complementarias a unas secuencias determinadas del ADN viral. La HIS ha sido optimizada para poder llevar a cabo con material parafinado, en tanto que la PCR cuenta con mayor eficacia al utilizarla sobre tejido fresco.

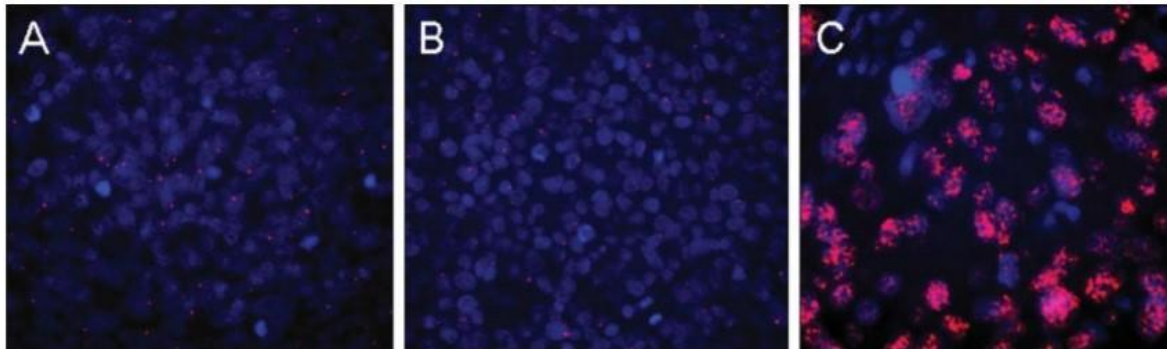


Figura 1. HIS de ADN viral en muestra de COF, a diferentes aumentos.

DETECCIÓN DEL GENOTIPO VIRAL POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).

Los estudios de biología molecular son de gran potencial como herramienta diagnóstica y pronóstico, utilizando métodos basados en la amplificación de ADN por reacción en cadena de la polimerasa. Sin embargo, el procedimiento de extracción de ADN a partir de muestras biológicas, tiene un impacto significativo sobre la sensibilidad y reproducibilidad de esta prueba molecular. Por ello es de vital importancia desarrollar un método de extracción de ADN que permita obtener genoma amplificable con un óptimo rendimiento. El ADN extraído y purificado de la muestra clínica de tejido laríngeo, se amplifica por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual debe su nombre a la actividad de la enzima ADN polimerasa que permite crear ADN a partir de su cadena complementaria.

Con este método se logra la amplificación de un fragmento específico de ADN gracias a la multiplicación exponencial del mismo (Eva Mas, 2001). Empleando cebadores genéticos específicos de los genotipos virales 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66 (Primers 6F-6R, Primer 11F-11R16, Primer 18F-18R, Primer 31F-31R, Primer 33F-33R, Primer

35F-35R, Primer 39F-39R, Primer 45F-45R, Primer 51F-55R, Primer 52F-52R, Primer 56F-56R, Primer 58F-58R, Primer 59F-59R y Primer 66F-66R), y el cebador ALBUMINA que se encuentra en todos los individuos independientemente de la presencia o no de genotipos de VPH, por lo que constituye un control interno de la reacción. Es posible detectar mediante esta manera un amplio espectro de VPH que habitualmente afectan el trato aerodigestivo. El producto de esta amplificación puede verse como múltiples bandas en un gel de Agarosa.

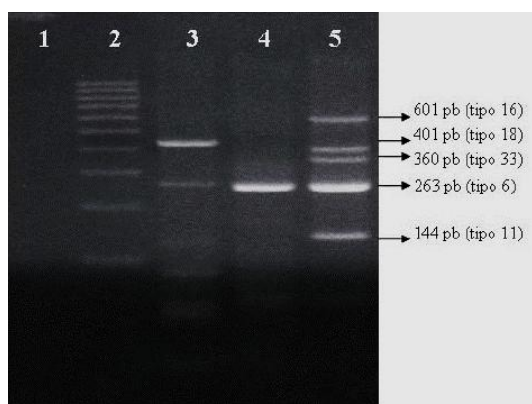


Figura 2. Detección y tipificación del VPH: Línea 1 *Control Negativo*; Línea 2: *Marcador de PM*; Línea 3: *Paciente VPH positivo*; Línea 4: *Paciente VPH positivo tipo 6*; Línea 5: *Control positivo (Kit multiplex)* *Revista de la sociedad venezolana de microbiología. Genotipificación de VPH*

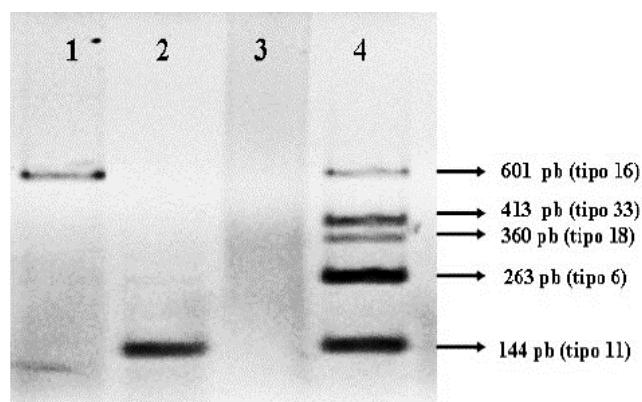


Figura 3. Detección y tipificación del VPH: Línea 1 *Paciente VPH positivo tipo 16*; Línea 2: *Paciente VPH positivo tipo 11*; Línea 3: *Control Negativo*; Línea 4: *Control positivo (Kit multiplex)*

VII. DISEÑO METODOLOGICO.

1. TEMA:

Detección y tipificación del genotipo del Virus del Papiloma Humano en Pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente en el Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenin Fonseca en el período comprendido de enero-diciembre del 2017.

2. TIPO DE ESTUDIO:

Es un estudio de tipo descriptivo, observacional, prospectivo, de corte transversal.

3. ÁREA DE ESTUDIO:

Se realizará la presente investigación en el Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Escuela Antonio Lenin Fonseca de la Ciudad de Managua en el año 2017.

4. UNIVERSO:

32 pacientes con diagnóstico histopatológico de Papilomatosis laríngea recurrente atendidos en el servicio de otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenin Fonseca en el periodo enero-diciembre 2017.

5. MUESTRA:

Corresponden a 24 pacientes con diagnóstico histopatológico de Papilomatosis laríngea recurrente atendidos en el servicio de otorrinolaringología que cumplen con los criterios de inclusión.

6. MUESTREO

Fue de tipo no probabilístico por conveniencia de los pacientes con Papilomatosis laríngea atendidos en el Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Escuela Antonio Lenín Fonseca.

7. UNIDAD DE ANALISIS:

Constituida por pacientes con diagnóstico histopatológico de Papilomatosis laríngea recurrente atendidos en el Hospital Antonio Lenin Fonseca en el periodo de enero-diciembre 2017.

8. UNIDAD OBSERVACIONAL:

Laringe (supraglotis, glotis, subglotis) de cada paciente.

9. CRITERIOS DE SELECCION DE LOS PACIENTES:

CRITERIOS DE INCLUSION.

- Pacientes con diagnostico histopatológico de Papilomatosis laríngea que acudieron a consulta externa de ORL durante el periodo de esta tesis.
- Pacientes con diagnóstico de Papilomatosis desde su período de infancia o adulto.
- Pacientes con diagnóstico de Papilomatosis laríngea que hayan sido intervenidos quirúrgicamente en el periodo comprendido en la presente tesis.
- Pacientes que hayan firmado el consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSION.

- Pacientes sin diagnostico histopatológico de Papilomatosis laríngea recurrente.
- Pacientes con Papilomatosis laríngea que se encuentran en periodo de remisión o curación.
- Pacientes que no firmaron el consentimiento informado.

10. FUENTE DE INFORMACION.

Fuente de información Primaria:

- a. Ficha de Recolección de Datos de la Tesis y las Historias Clínicas del Paciente.

Fuente de información Secundaria:

- a) Internet.
- b) Estudios Realizados sobre Papilomatosis laríngea recurrente.
- c) Consensos Internacionales y Bibliografía Internacional sobre Papilomatosis Laríngea recurrente.

11. ENUNCIADO DE LAS VARIABLES

Las variables de estudio fueron definidas en relación a cada uno de los objetivos específicos del presente estudio.

Objetivo 1: Identificar las constantes biológicas de los pacientes en estudio.

- **Constantes biológicas: Edad al diagnóstico, sexo, procedencia**

Objetivo 2: Mencionar los criterios clínicos al diagnóstico de pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

- **Criterios clínicos**

Objetivo 3: Describir la localización anatómica de las lesiones papilomatosas al diagnóstico.

- **Localización anatómica (uno/dos o más subsitios)**

Objetivo 4: Enunciar el número de intervenciones quirúrgicas desde el diagnóstico hasta la actualidad.

- **Número de intervenciones quirúrgicas**

Objetivo 5: Describir los genotipos de VPH más frecuentes en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

- **Genotipos de VPH**

12. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES:

Objetivo 1. Identificar las constantes biológicas de los pacientes en estudio.

Tabla 1: Constantes biológicas

Variable	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Escala	Valor
Constantes biológicas	Conjunto de caracteres relacionados a la procedencia y aspectos sociales a la demografía de los individuos en estudio	Edad	Años cumplidos al momento del diagnóstico	Intervalo	a) 1-10 años b) 11-20 años c) 21-30 años d) 31-40 años e) 41-50 años f) 51-60 años g) 61 o más años
		Sexo	Características fenotípicas	Nominal	a) Mujer b) Hombre
		Procedencia	Lugar, cosa o persona de donde deriva, viene o se origina algo o alguien	Nominal	a) Urbano b) Rural

Objetivo 2. Mencionar los criterios clínicos al diagnóstico de pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

Variable	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Escala	Valor
Criterios clínicos	Síntomas comunes pertinentes a una enfermedad	Disfonía crónica Disnea Estridor	Presencia o ausencia de síntomas.	Nominal	Presente o Ausente

Objetivo 3. Describir la localización anatómica de las lesiones papilomatosas al diagnóstico.

Variable	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Escala	Valor
Localización anatómica. (uno/dos o más subsitios)	Ubicación del punto exacto de aparición de lesiones papilomatosas.	Epiglotis	Localización anatómica	Nominal	Presente o Ausente
		Aritenoides			
		Pliegues Aritenoepigloticos			
		Presente Ausente			
		Cuerdas Vocales			
		Comisura Anterior/Posterior			
		Subglotis			
		Tráquea			

Objetivo 4. Enunciar el número de intervenciones quirúrgicas desde el diagnostico hasta la actualidad.

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala	Valor
Número de intervenciones quirúrgicas	Total de intervenciones quirúrgicas realizadas desde el diagnóstico de Papilomatosis laríngea.	Total de intervenciones quirúrgicas realizados	Número de intervenciones quirúrgicas	Intervalo	a) 1-10 b) 11-20 c) 21-30 d) 31-40 e) 41-50 f) >50

Objetivo 5. Describir los genotipos de VPH más frecuentes en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

Variable	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Escala	Valor
Genotipos de VPH	Grupos diversos de Virus ADN-VPH	Genotipo encontrado mediante PCR en cada paciente.	Tipificación de Genotipos	Ordinal	a) VPH 6 b) VPH11 c) VPH 6/11 d) VPH16 e) VPH18 f) VPH 6,39,58,66 g) VPH 11, 31, 66 h) VPH 6, 11, 39, 66

13. PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACION:

1. Selección de los Pacientes con diagnóstico de Papilomatosis laríngea confirmado por histopatología en el Hospital Antonio Lenin Fonseca del Ministerio de Salud de Managua, Nicaragua durante el período señalado a quienes se les aplicó los criterios de inclusión y exclusión.
2. Elaboración de Historia Clínica de cada paciente seleccionado.
3. Elaboración de ficha de datos de cada paciente seleccionado. Previo a su utilización, se realizó una prueba de validación técnica para hacer las debidas adaptaciones. *Con respecto a la validación técnica:* el instrumento fue revisado por un médico especialista de Otorrinolaringología. Una vez corregido y validado, el instrumento, se solicitó a la Subdirección Docente del Hospital Escuela Antonio Lenín Fonseca la autorización para realizar dicha investigación.
4. Los pacientes a los cuales se les programó papilomectomía laríngea mediante técnica de microcirugía laríngea en sala de operaciones previo consentimiento informado para la cirugía,

se les obtuvo muestra histopatológica la cual se depositó en un tubo Falcon que contenía 5ml de PBS 1X + TWEEN20 para conservar el tejido y fue transportado frío en un termo de almacenamiento aislante hacia el laboratorio de Biología Molecular del POLISAL UNAN-Managua donde se realizó el protocolo de extracción de ADN del tejido laríngea mediante PCR (QIAamp® DNA Mini Kit).

5. Los resultados obtenidos de la PCR brindados por el equipo del laboratorio de biología molecular UNAN-Managua se registraron en la ficha de recolección de datos en la sección correspondiente al objetivo 5. Anexo No 5.

14. METODO DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN:

1. La información obtenida fue recopilada, ordenada, clasificada, agrupada y analizada de acuerdo a los objetivos propuestos en el presente estudio, luego se realizó introducción y análisis estadísticos de los datos en SPSS versión 21 (Paquete estadístico para las Ciencias Sociales), las tablas y gráficos se hicieron en el mismo programa.
2. Se elaboró un informe final sobre el estudio con la utilización de Microsoft Office versión 13.

15. ANALISIS ESTADÍSTICO.

- Análisis Porcentual.
- Análisis de Significancia Estadística de chi cuadrado.
- Análisis Factorial.
- Tabla y Gráficos codificados en SPSS versión 21.

16. CONSIDERACIONES ÉTICAS:

La presente tesis se realiza con fines académicos y científicos, cuyos resultados obtenidos son estrictamente confidenciales y con el consentimiento informado previo de los pacientes con diagnóstico de Papilomatosis laríngea recurrente. Así también se llenó un consentimiento informado para la cirugía explicándosele las complicaciones derivadas de dicho procedimiento quirúrgico.

VIII. RESULTADOS.

Se estudiaron 24 pacientes con Papilomatosis Laríngea Recurrente operados por el Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenin Fonseca, en el periodo de enero a diciembre 2017. Para posteriormente al tejido laríngeo obtenido realizarle técnica de PCR. Los Resultados se describirán en base a los objetivos planteados durante la presente tesis y son los siguientes:

1. OBJETIVO No.1: Identificar las constantes biológicas de los pacientes en estudio.

1.1. En relación al Grupo Etario diagnosticado con Papilomatosis Laríngea, del total de 24 pacientes para un 100%, 13 pacientes (55%) correspondieron al grupo etario de 1-10 años, 2 pacientes (8%) al grupo etario de 11-20 años, ningún paciente en el grupo etario de 21-30 años, 2 pacientes (8%) al grupo de 31-40 años, 0 pacientes al grupo de 41-50 años, 5 pacientes (21%) al grupo de 51-60 años y 2 pacientes (8%) al grupo de 61 años o más. (Ver Tabla 1.1.).

1.2. En relación al Sexo de los pacientes diagnosticado con Papilomatosis Laríngea, del total de 24 pacientes 11 pacientes (46%) son del sexo femenino y 13 pacientes (54%) del sexo masculino. (Ver Tabla 1.2.).

1.3. En relación del Sexo de los pacientes y el diagnóstico de Papilomatosis Laríngea, de los 24 Pacientes, 15 de ellos resultaron con el diagnóstico de Papilomatosis laríngea juvenil en menores de 18 años de los cuales 8 del sexo femenino y 7 del sexo masculino. Los pacientes mayores de 18 años que fueron diagnosticados con Papilomatosis laríngea de adultos son 9 pacientes, de los cuales 6 masculinos y 3 femeninos. (Ver Tabla 1.3.).

1.4. En relación a la procedencia de los pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea del total de 24 pacientes, 10 pacientes son del área urbana (42%) y 14 pacientes son del área rural (58%). (Ver Tabla 1.4.)

2. Objetivo No.2: Mencionar los criterios clínicos al diagnóstico de pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

2.1.En relación a los pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea tanto Juvenil y Adulto, los síntomas presentes son disfonía crónica en los 24 pacientes (100%), disnea en 16 Pacientes (67%) de los casos y estridor en 7 pacientes (29%) del total de casos atendidos con diagnóstico de Papilomatosis Laríngea. (Ver Tabla 2.1.).

2.2.En relación a la Papilomatosis laríngea juvenil en menores de 18 años del total de casos que fueron 15 pacientes, presentaron disfonía crónica los 15 pacientes (100%), disnea 12 pacientes (80%) y Estridor 4 pacientes (27%) del total de casos (Ver Tabla 2.2).

2.3.En relación a la Papilomatosis Laríngea Adulto en mayores de 18 años , del total de casos que fueron 9 pacientes, presentaron disfonía crónica los 9 pacientes (100%), disnea 4 pacientes (44%) y estridor 3 pacientes (33%) del total de casos (Ver Tabla 2.2.).

3. Objetivo No.3 Describir la localización anatómica de las lesiones papilomatosas al diagnóstico.

3.1. Del total de 24 casos diagnosticados con Papilomatosis laríngea, 2 casos (8%) se localizaron en

la Epiglotis y 22 casos ausentes (92%), 1 caso en la aritenoides (4%) y 23 casos ausentes (96%), 0 casos hubieron en los pliegues aritenoepigloticos, 10 casos se presentaron en las bandas ventriculares (42%) y 14 casos ausentes (58%), 22 casos en las cuerdas vocales (92%) y 2 casos ausentes (8%), 12 casos en la comisura anterior/posterior (50%) y 12 casos ausentes, 1 caso en la subglotis (4%) y 23 casos ausentes (96%) y no hubieron casos reportados en tráquea. (Ver Tabla

3.2.En relación a la localización anatómica en base a los subsitios afectados, en relación a los 15 casos con Papilomatosis laríngea juvenil , 5 casos fueron en un subsitio (21%) y 10 casos ausentes, en relación a dos o más subsitios 10 casos se presentaron (42%) y 5 casos ausentes (21%). (Ver Tabla 3.2.).

3.3. En relación a la localización anatómica en base a los subitios afectados en relación a los 9 casos con Papilomatosis laríngea de Adulto, 2 casos fueron en un subsitio (8%) y 7 casos ausentes, en relación a dos o más subsitios 7 casos se presentaron (29%) y 2 casos ausentes (8%) de los casos. (Ver Tabla 3.3).

4. Objetivo No.4 Enunciar el número de intervenciones quirúrgicas desde el diagnostico hasta la actualidad.

4.1. En relación al total de intervenciones quirúrgicas de los 24 pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea y su relación con el sexo encontramos lo siguiente: Del total de casos del sexo masculino que son 13, a 10 pacientes se les realizó entre 1-10 intervenciones quirúrgicas (42%), a 1 paciente se le realizó entre 21-30 intervenciones quirúrgicas (4%), a 1 paciente se le realizó entre 31-40 intervenciones quirúrgicas (4%) y a 1 paciente se le realizó más de 50 intervenciones quirúrgicas (4%) de los casos. (Ver Tabla 4.1.).

4.2. En relación al total de intervenciones quirúrgicas en los 11 casos del sexo femenino, a 3 pacientes se le realizaron entre 1-10 intervenciones quirúrgicas (13%), a 1 paciente entre 11-20 intervenciones quirúrgicas (4%), a 3 pacientes entre 21-30 intervenciones quirúrgicas (13%), a 1 paciente entre 31-40 intervenciones quirúrgicas (4%) y a 3 pacientes se les realizó más de 50 intervenciones quirúrgicas (13%) del total de casos (Ver Tabla 4.1.).

4.3. En relación a la edad de aparición de la Papilomatosis laríngea y las intervenciones quirúrgicas, encontramos lo siguiente: De los 15 casos con Papilomatosis laríngea Juvenil antes de los 18 años, 6 casos se les realizó entre 1-10 intervenciones quirúrgicas (25%) , 2 casos de 21-30 intervenciones quirúrgicas (8%), 2 casos entre 31-40 intervenciones quirúrgica (8%), 1 caso entre 41-50 intervenciones quirúrgicas (4%), y a 4 casos más de 50 intervenciones (17%) (Ver Tabla 4.2).

4.4. En relación a los 9 casos de Papilomatosis Laríngea del Adulto mayor de 18 años, 7 casos presentaron de 1-10 intervenciones quirúrgicas (30%), 1 caso entre 11-20 intervenciones quirúrgicas (4%), 1 caso entre 21-30 intervenciones quirúrgicas (4%). (Ver Tabla 4.2).

5. Objetivo No.5. Describir los genotipos de VPH más frecuentes en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

5.1. En relación a los 24 casos diagnosticados con Papilomatosis laríngea, los genotipos que se presentaron son los siguientes; en 5 pacientes el VPH tipo 6 (21%), en 4 pacientes el VPH tipo 11 (17%), en 10 pacientes el VPH tipo 6 y tipo 11 (42%), en 2 pacientes el VPH tipo 6, 39, 58 y 66 (8%), en 1 paciente el VPH tipo 11, 31 y 66 (4%), y en 2 pacientes el VPH tipo 6, 11, 39 y 66 para un 8% de los casos. (Ver Tabla 5.1.).

5.2. En relación al riesgo del Genotipo de los 24 casos, encontramos 5 Casos de VPH de alto riesgo con coinfección de bajo riesgo, distribuidos de la siguiente forma: 3 casos del Sexo Femenino con VPH de alto riesgo (13%) y 2 casos del sexo masculino de alto riesgo (8%). (Ver Tabla 5.2.)

5.3. En relación al riesgo del genotipo de los 24 casos, encontramos 19 casos con VPH de bajo riesgo sin coinfección de alto riesgo, distribuidos de la siguiente forma: 8 casos del sexo femenino con VPH de bajo riesgo (33%) y 11 casos del sexo masculino de bajo riesgo (46%). (Ver Tabla 5.2.).

5.4. En relación al promedio del número de intervenciones y el genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea, encontramos lo siguiente: en 5 pacientes (21%) con genotipo de tipo 6 se le realizaron 94 intervenciones, a 4 pacientes (17%) con genotipo de tipo 11 se le realizaron en global 42 intervenciones, a 10 pacientes (42%) con genotipo 6 y 11 se le realizaron en global 237 intervenciones quirúrgicas y a 5 pacientes (21%) con genotipo 6 y 11 y VPH de alto grado se le realizaron 229 intervenciones quirúrgicas. (Ver Tabla 5.3).

5.5. En relación al genotipo de los 24 pacientes con Papilomatosis laríngea y la edad de aparición encontramos lo siguiente: de los 15 casos con Papilomatosis laríngea Juvenil menor de 18 años, 3 casos con el genotipo 6 (13%), 2 casos con el genotipo 11 (8%), 7 casos con el genotipo 6 y 11 (29%) y 3 casos con el genotipo 6 y/o 11 y genotipo de alto grado (13%). (Ver Tabla 5.4).

5.6. En relación al genotipo de los 24 pacientes con Papilomatosis laríngea y la edad de aparición encontramos que de los 9 casos con Papilomatosis laríngea mayor de 18 años, en 2 casos con el genotipo 6 (8%), 2 casos con el Genotipo 11 (8%), 3 casos con el Genotipo 6 y 11 (13%), 2 casos

con el genotipo 6 y/o 11 y genotipo de alto grado (8%). (Ver Tabla 5.4).

5.7. En relación con el genotipo de los 24 pacientes con Papilomatosis laríngea y su localización anatómica de las lesiones Papilomatosis, encontramos lo siguiente: el genotipo 6 en 3 casos de un subsitio (12%) y 2 casos en dos o más subsitios (8%). El genotipo 11 en 3 casos con un subsitio (13%) y 1 caso con dos o más subsitios (4%). El genotipo 6 y 11 en 10 casos con dos o más subsitios (42%) y el genotipo 6 y/o 11 y genotipos de alto grado en 5 casos con dos o más subsitios (21%) de los casos. (Ver Tabla 5.5.).

IX. ANALISIS DE RESULTADOS.

El análisis de los resultados lo haremos en función de los objetivos planteados y de las investigaciones que se han realizado sobre Papilomatosis y que exponemos a continuación:

OBJETIVO No.1: Identificar las constantes biológicas de los pacientes en estudio.

1.1. En relación al grupo etario, de los 24 pacientes diagnosticados con Papilomatosis predominó el grupo etario de los 1-10 años con un 55% de los casos (13 casos) en primer lugar y de los 51-60 años con un 21% de los casos en segundo lugar. Nuestros resultados coinciden con investigaciones realizadas del comportamiento bimodal de la Papilomatosis y del predominio en niños como la realizada en el Hospital de Oslo-Noruega donde hubo mayor incidencia en este grupo etario (9). (Ver tabla 1.1).

1.2. En relación al sexo, de los 24 pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea, predominó el sexo masculino con un 54% de los casos (13 casos). Nuestros resultados coinciden con las investigaciones realizadas en el Hospital Vigo de España en una revisión de 20 años donde predominó el sexo masculino con un 81.8% de casos (11) (Ver tabla 1.2).

1.3. En cuanto a la relación del sexo con la Papilomatosis laríngea juvenil en menores de 18 años del total de 15 casos que se presentaron no hubo diferencia significativa entre el sexo masculino (7) o el sexo femenino (8). Sin embargo en la Papilomatosis laríngea de los adultos mayores de 18 años del total de 9 casos, si hubo una diferencia significativa, con mayor predominio del sexo masculino (6 casos) a la del sexo femenino (3 casos). Nuestros resultados coinciden con lo expresado por el Grupo de Infecciones y Cáncer de Antioquía Colombia no hubo un mayor predominio de los adultos del Sexo Masculino (8), (Ver Tabla 1.3.).

1.4. En cuanto a la relación de la procedencia de los pacientes y el diagnóstico de la Papilomatosis laríngea, de los 24 casos, predominó el área rural en un total del 58% de casos (14) que refleja las condiciones limitadas de prevención en relación a la educación sanitaria de nuestra población rural. Nuestros resultados coinciden con la investigación realizada por el Hospital Universitario de Honduras sobre Papilomatosis donde hubo predominio del área rural. (Estrada et al.2016) (Ver

Tabla 1.4.).

Objetivo No.2: Mencionar los criterios clínicos al diagnóstico de pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

2.1. En relación a los criterios clínicos, del total de 24 pacientes, predominó la disfonía en un 100% de los casos (24 casos) en primer lugar y la disnea en un 67% de los casos (16) en segundo lugar. Nuestros hallazgos coinciden con el realizado por el Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Jalisco, México con predominio de la disfonía en primer lugar. (12). (Ver Tabla 2.1.).

2.2. En relación a los síntomas predominantes para Papilomatosis laríngea juvenil en < 18 años y en adultos > 18 años, en el 100% de los casos predominó la disfonía crónica. Resultados similares se expresaron en el estudio sobre la Prevalencia de la Papilomatosis en España, donde hubo mayor afectación laríngea con predominio de la disfonía (4) y lo expresado por Bauman and Smith donde considera que la disfonía es el síntoma principal de la Papilomatosis (10). (Ver Tabla 2.2).

Objetivo No.3 Describir la localización anatómica de las lesiones papilomatosas al diagnóstico.

3.1. En relación a la localización anatómica de las lesiones papilomatosas del total de 24 casos, predominó en primer lugar la localización en las cuerdas vocales con un 92% de casos (22 casos) y en segundo lugar la comisura anterior/posterior con un 50% de los casos. Nuestros resultados son similares a la investigación realizada en el Hospital Vigo de España donde hubo un predominio de la afectación de las cuerdas vocales y más del 50% de los pacientes fueron sintomáticos (12) y por lo expresado por la literatura internacional donde las lesiones se localizan preferentemente en la endolaringe donde las primeras lesiones suelen aparecer en cuerdas vocales o en pliegues vocales falsos. (Ver Tabla 3.1.).

3.2. En relación a la Papilomatosis laríngea juvenil del total de 15 casos que se presentaron predominaron la afectación anatómica de dos o más subsitios con un 67% de casos (10 casos). Estos resultados concuerdan con la literatura internacional donde se considera a la forma juvenil como más agresiva y que se presenta como lesiones exofíticas multifocales en las cuerdas vocales y extendiéndose hacia la regiones supragloticas, subglotica y traqueal (12). (Ver Tabla 3.2.).

3.3. En relación a la Papilomatosis laríngea de los adultos del total de 9 casos que se presentaron predominó la afectación anatómica de dos o más subsitios con un 78% de casos (7 casos). Estos resultados nos reflejan el comportamiento de la Papilomatosis laríngea ya reportada en toda la literatura científica mundial y que también se publicó en un estudio realizado en el Hospital General Universitario de Alicante España entre 1995 y 2010, donde se presentaron multilocalizaciones de lesiones. (5). (Ver Tabla 3.3.).

Objetivo No.4 Enunciar el número de intervenciones quirúrgicas desde el diagnóstico hasta la actualidad.

4.1. En relación al total de número de intervenciones quirúrgicas en los 24 pacientes atendidos, predominaron el sexo masculino con un total de 1-10 intervenciones con un 42% de los casos. Estos resultados son coincidentes con las investigaciones internacionales donde más del 40% de los casos se les realizaron más de 5 intervenciones como la efectuada por el Hospital Vigo de España (12). (Ver Tabla 4.2.).

4.2. En relación a la Papilomatosis laríngea juvenil en < 18 años y en Adultos > de 18 años, del total de 24 pacientes, predominaron las intervenciones quirúrgicas con un rango de 1-10 intervenciones quirúrgicas para un 54% de los casos (13 casos). En el grupo de pacientes con Papilomatosis laríngea juvenil de 15 pacientes 4 pacientes presentaron de 50 a más intervenciones quedando en segundo lugar para un 17% lo cual coincide con la literatura internacional revisada que afirma la forma juvenil evoluciona de forma más agresiva (12). La intervención oportuna y temprana se considera relevante para obtener una remisión sin recidivas, en aclaramiento y en curación. Se presentó un caso que evolucionó hacia la malignización. Nuestros resultados coinciden con el estudio realizado en el Hospital General Universitario de Alicante España, donde hubo un caso de malignización similar al presentado en nuestro estudio que evolucionó con un cáncer de la Orofaringe. (5). (Ver Tabla 4.3.).

Objetivo No.5. Describir los genotipos de VPH más frecuentes en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

5.1. Del total de 24 casos estudiados predominaron individualmente el VPH tipo 6 con un 21% de los casos (5 pacientes) en primer lugar, el VPH tipo 11 con un 17% de los casos (4 pacientes) en segundo lugar. Nuestros resultados coinciden con la literatura internacional y las investigaciones realizada en la Universidad of the Free State Bloemfontein, South Africa (6), y en Colombia por la Universidad de Antioquia (8) donde VPH 6 se detectó en 69% y VPH 11 en 27.1% de las muestras. No así en otros estudios similares como el del Departamento de Virología en Sofía Bulgaria (7), o el estudio del Hospital de Vigo de España donde predominó el VPH 11 (12), o el estudio de Rusia donde predominó el VPH 11 (15). Se reportaron 5 casos que corresponde al 20% de casos con VPH 31, 39,58 y 66. Resultados del estudio llevado a cabo en Jalisco, México reflejan nuestros hallazgos al encontrar otros tipos virales (Ver Tabla 5.1.).

5.2. Del total de 24 casos estudiados, predominaron las coinfecciones múltiples de VPH 6 y VPH 11 con un total de 42% de los casos (10 pacientes), nuestros resultados coinciden con lo expresado por la investigación de Oslo Noruega donde predominaron los VPH6-VPH11 (9), Iguales resultados se obtuvieron con la investigación del Hospital Universitario de Caracas con predominio del VPH6-VPH11(14) y en una investigación realizada en el Centro de Investigaciones Biomédica de Occidente, Jalisco-México el VPH se detectó en el 100% de los muestras, el 74% mostró coinfección con 2 o más genotipos de virus (12). Los estudios realizados alrededor del mundo han reportado el ADN del VPH en casi el 100% de los casos con VPH 6 y 11 en prácticamente el 90% de ellos y tasas similares de múltiples infecciones(8).(Ver Tabla 5.1.).

5.3. En relación al nivel de agresividad del genotipo, se identificó que los 24 casos diagnosticados con Papilomatosis laríngea, el 79% de los casos (11 pacientes) presentaron un VPH de Bajo Grado de Agresividad y 5 casos (21 pacientes) con un 21% de VPH de Alto Grado. Nuestros resultados coinciden con los expresados en Rusia sobre la prevalencia del virus del papiloma humano la mayoría de los casos resultaron con un bajo grado de agresividad, aunque no se encontró una

asociación estadísticamente significativa(15), igual a como lo expresaron en el centro de investigaciones biomédicas de occidente en Jalisco, México donde no hubo asociación estadística ni clínica relevante (13) con el nivel de agresividad clínica.(Ver Tabla 5.2.).

5.4.En relación al promedio del número de intervenciones y el genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea podemos afirmar que los 24 pacientes atendidos predominaron el número de infecciones con un total de 237 intervenciones en primer lugar de los pacientes con coinfecciones del VPH 6 y VPH 11 con un equivalente al 42% de las intervenciones (237 intervenciones). Sin embargo en intervenciones promedio resultaron ser las coinfecciones de VPH6-VPH11 y VPH de alto grado con un promedio de 46 intervenciones por casos. A pesar que nuestra casuística no es alta, llama la atención el alto porcentaje de las coinfecciones y su nivel de intervenciones. Nuestra relación porcentual no coincide con las investigaciones internacionales como la de la Universidad de Oslo, Noruega (9) o de la Universidad de Antioquía donde el promedio de intervenciones fue de 5 por pacientes. (12). Es probable que esto se deba a las limitaciones tecnológicas presentes en Nicaragua, la carencias de medidas de prevención, las limitaciones del abordaje farmacológico y el entorno de las limitaciones económicas de los pacientes. Además del nivel de agresividad de las coinfecciones. (Ver Tabla 5.3).

5.5.En relación al genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea y la edad de aparición de los 15 casos que predominaron en los menores de 18 años predominaron con un 47% de casos (11 pacientes) los Genotipos 6 y 11 coincidiendo con el estudio del Hospital Universitario de Caracas donde predominaron en los niños en la primera década de la vida (14). Y con la distribución bimodal expresada en la población juvenil según estudio publicado por la Universidad de Antioquia Colombia con predominio en menores de 12 años (8). No se presentaron diferencias significativas en adultos del total de casos (9 pacientes). (Ver Tabla 5.4.).

5.6.En relación al genotipo de pacientes y la localización anatómica, del total de pacientes 24, en 18 casos (75%) se presentaron dos o más subsitios para los genotipos de VPH 6 y VPH 11, predominando las coinfección del Genotipo VPH6 y VPH11 (10 casos). Estos resultados reflejan lo expresado por la literatura de que en su evolución juvenil es más agresiva en su nivel de extensión y propagación de la forma adulta donde se es menos agresiva (12).(Ver Tabla 5.4)

Sin embargo cabe destacar que el VPH 11 tanto a nivel individual y de coinfección del total de 100

casos, está presente en el 78% de los infectados (Ver Tabla 5.1). Esto coincide con la literatura internacional como lo expresado por la Investigación de la Universidad of the Free State Bloemfontein de South África donde consideran que el VPH 11 es más agresivo que el VPH 6 (6).

X. CONCLUSIONES.

1. Hubo una distribución bimodal del total de 24 casos donde el grupo etario de 1-10 años se diagnosticaron 13 casos y el de 51-60 años con 5 casos. Predominó el sexo masculino. La Papilomatosis laríngea juvenil en menores de 18 años resultó la más frecuente. La procedencia del área rural es la más frecuente.
2. La disfonía crónica se presentó en el 100% de los casos.
3. La localización anatómica de las cuerdas vocales con 92% es la más importante. En la Papilomatosis laríngea juvenil y la de adultos predominaron dos o más subsitios de extensión anatómica.
4. Prevalcieron para la Papilomatosis laríngea juvenil y de adultos tanto para el sexo masculino como el sexo femenino un total de 1-10 intervenciones quirúrgicas. En relación a la edad de aparición de la Papilomatosis laríngea juvenil y el número de intervenciones quirúrgicas a 4 (17%)
5. Las coinfecciones del VPH tipo 6 y VPH tipo 11 en un 42% de los casos son las más frecuentes. Se encontraron 5 casos (20%) con coinfección de VPH 6 y/u 11 con VPH 31, 39,58 y 66. No se encontraron infecciones de VPH tipo 16 ni de VPH tipo 18. Predominaron los VPH de Bajo Grado con un 79% de casos. Los VPH de aparición juvenil como coinfección del VPH 6 y VPH 11 son las más importantes.

XI. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la detección y tipificación del genotipo de VPH en pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea recurrente, ya que puede ser útil como marcador pronóstico, pues estos datos proporcionan una base para caracterizar mejor esta desafiante población de pacientes con el fin de apoyar el desarrollo de terapias dirigidas.
2. Con conocimiento del predominante papel de VPH 6 y VPH 11 en casos de Papilomatosis laríngea recurrente, gestionar con las autoridades sanitarias la incorporación al programa de vacunación nacional una vacuna eficaz dirigida contra estos genotipos para que tanto pacientes de procedencia urbana como rural tengan acceso a estas, y lograr reducir la incidencia de los genotipos asociados en las futuras madres, con un probable beneficio posterior adicional de reducir la incidencia de Papilomatosis laríngea en niños.
3. Promover la realización de estudios que evalúan la eficacia de la vacuna contra el VPH para prevenir las recurrencias durante el tiempo del curso de la enfermedad y estudios sobre la identificación de agentes terapéuticos coadyuvantes más eficaces lo cual conduciría a un pronóstico mejorado para niños y adultos con Papilomatosis laríngea recurrente.
4. A las autoridades del Hospital Antonio Lenin Fonseca instamos a capacitar al personal del laboratorio de nuestra unidad de salud sobre el protocolo de detección y tipificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación de ADN VPH.

XII. BIBLIOGRAFIA

1. Alarcón L.Arias J. Arce C, Lee Ch, Torres A. Yoffe Y, et al. Papilomatosis Laríngea Recurrente con transformación a carcinoma pulmonar. Cirug. Parg. 2013; 37 (1):27-29.
2. Rimel FL, Shoemaker DL, Pou AM, Jordan JA, Post CJ, Ehrlich GD, Pediatric respiratory papillomatosis: prognostic role of viral subtyping and cofactors. Laryngoscope. 1997; 107: 915-918.
3. Derkay CS, Darrow Dh. Recurrent respiratory Papilomatosis of the larynx: Current diagnosis and treatment. American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. Instructional Courses. 1999
4. Henríquez Alarcón M, Altuna Mariezkurrena X, Golburu Minués M, Veja Orté JC, Cama Arriaga JJ, Algaba Guimerá J. Papilomatosis Respiratoria Recurrente. Anales ORL Iver.Amer 2003; 30(2):179-91.
5. Castillo G Carmen, et al colbs. Papiloma y Papilomatosis laríngea. Tratamiento con láses CO2.Servicio de Otorrinolaringología, Hospital General Universitario, Alicante, España.2010.
6. R.Y Seedat, M.Thiukane, A.C.Jansen y colbs. HPV Types causing juvenile recurrent laryngeal papillomatosis in South Africa. University of the Free State. Bloemfontein,South Africa.2009
7. Pavel Draganov, Spiridon Todorov,Ivan Torodov y colbs. Identification of HPV DNA in patients with juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. National Center of Infectious and Parasitic Disease, Sofia.Bulgaria 2005.
8. Sanchez Gloria Msc, PHD and Colbs. Human Papillomavirus genotype detection in recurrent respiratory Papillomatosis in Colombia. Infections and Cancer Group, School of Medicine, University of Antioquia, Colombia.2011.
9. Turid Omland, MD and colbs. Epidemiological Aspects of Recurrent Respiratory Papillomatosis: A Population-Based Study. Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck, Surgery, Oslo University Hospital. Oslo; Norway.2012.
10. Campisi Paolo,Msc,MD,FRCSC,FAAP and colbs.The Epidemiology of Juvenile Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis Derived From a Population Level National Database

- Canadian Juvenile Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis Working Group. Toronto, Ontario-Canada. 2010.
11. Gutiérrez Zamalloa Shirley and Lorenzo Ana Isabel. Recurrent Laryngeal Papillomatosis, Juvenile and Adult: 1990-2010. Complejo Hospital Universitario de Vigo (CHUVI). España. 2011.
 12. Peñaloza-Plascencia M and cols. Molecular identificación of 7 human papillomavirus types in recurrent respiratory papillomatosis. División de Medicina Molecular. Centro de Investigaciones Biomédica de Occidente, Jalisco-México. 2000.
 13. Alford de Bello M and G Caibe R. Tipificación del Virus del Papiloma Humano en Papilomatosis Laríngea Recurrente Juvenil.
 14. Obchinnikov Iu and Kiselev VI and cols. Prevalence of human papilloma virus types and their influence on the course of the disease in children suffering from recurrent respiratory papillomatosis. Vestn Otorinolaringol. 2004.
 15. Prescott C.A.J. Relationship between the clinical course and HPV typing of recurrent laryngeal papillomatosis. The Red Cross War Memorial Children's Hospital Experience 192-1988. South Africa. 2010.
 16. San Giorgi MR and cols. Age of onset of recurrent respiratory papillomatosis: a distribution analysis. British Association of Otolaryngologists Nederlandse Vereniging voor Keel-Neus-Oorheelkunde en Heelkunde van het Hoofd-Halsgebied. 2005
 17. Xue Q, Wang H, Wuanj J. Recurrent Respiratory Papillomatosis: An overview. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010; 29(9): 1051-4.
 18. Green G.E. Bauman NM, Smith RJH. Patogenia y Tratamiento de la Papilomatosis respiratoria recurrente de inicio juvenil. Clinicas Otorrinolaringológicas de Norteamérica. 2000 Vol. 1: 179-197.
 19. Ulloa V. The course of laryngeal papillomatosis treated by endolaryngeal microsurgery. Eur Arch Otorhinolaryngology. 2000; 257: 498-501.
 20. Munger K, y cols. The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. J Virol 1989; 63(10):4417-21.

21. Cogliano V y colbs. Carcinogenicity of human papillomaviruses. *Lancet Oncol* 2005;6(4):204.
22. DeVoti JA y colbs. Failure of gamma interferon but not interleukin-10 expression in response to human papillomavirus type 11 E6 protein in respiratory papillomatosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11(3):538–47.

XIII. ANEXOS.



Anexo No. 1. Ficha de recolección de datos

Detección y tipificación del genotipo del virus del papiloma humano en pacientes con Papilomatosis laríngea en el servicio de otorrinolaringología del Hospital Antonio Lenin Fonseca en el periodo comprendido enero-diciembre 2017

1. Constantes Biológicas:

Fecha: _____ No. Ficha _____ Sexo: _____

Nombres: _____ Apellidos: _____ Procedencia: _____

Edad: _____

OBJETIVO No.1. Identificar las constantes biológicas de los pacientes en estudio.

TABLA 1.1. Relación de Pacientes con su grupo etario al diagnóstico Papilomatosis Laríngea.

GRUPO ETARIO	TOTAL DE PACIENTES	PORCENTAJE
1- 10 años		
11-20 años		
21-30 años		
31-40 años		
41-50 años		
51-60 años		
61 años o más		
TOTAL		

TABLA 1.2 Relación de pacientes con Papilomatosis laríngea con el sexo.

SEXO	TOTAL DE PACIENTES	PORCENTAJE
FEMENINO		
MASCULINO		
TOTAL		

TABLA 1.3 Relación del sexo de pacientes al diagnóstico de Papilomatosis laríngea

PAPILOMATOSIS LARÍNGEA JUVENIL ≤ 18 AÑOS		PORCENTAJE	PAPILOMATOSIS LARÍNGEA ADULTO ≥ 18 AÑOS		PORCENTAJE
FEMENINO			FEMENINO		
MASCULINO			MASCULINO		
TOTAL			TOTAL		

TABLA 1.4 Relación de pacientes con Papilomatosis laríngea con su procedencia

PROCEDENCIA	TOTAL DE PACIENTES	PORCENTAJE
URBANO		
RURAL		
TOTAL		

OBJETIVO No.2 Mencionar los criterios clínicos al diagnóstico de pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

TABLA 2.1. Relación de pacientes con Papilomatosis laríngea y síntomas al diagnóstico

Criterios Clínicos	Presentes	Porcentaje	Ausente	Porcentaje
1.Disfonía Crónica				
2.Disnea				
3.Estridor				

TABLA 2.2. Relación de los síntomas al Diagnóstico de Pacientes con Papilomatosis Laríngea Juvenil y Adulto

Criterios clínicos	Papilomatosis laríngea juvenil ≤18 años					Papilomatosis laríngea adulto ≥18 años				
	presente	porcentaje	Ausente	ausente		presente	porcentaje	ausente	porcentaje	
Disfonía										
Disnea										
Estridor										

OBJETIVO No.3. Describir la localización anatómica de las lesiones papilomatosas al diagnóstico.

TABLA 3.1. Relación de la localización anatómica de lesiones en pacientes con Papilomatosis laríngea.

Localización Anatómica	PRESENTES	PORCENTAJE	AUSENTES	PORCENTAJE	Total de Paciente
a. Epiglotis					
b. Aritenoides					
c. Pliegues Aritenoepigloticos					
d. Bandas Ventriculares					
e. Cuerdas Vocales					
f. Comisura Anterior/Posterior					
subglotis					
h. Tráquea					

TABLA 3.2 Interpretar la localización anatómica según cantidad de subsitios afectados en pacientes con Papilomatosis laríngea juvenil y Papilomatosis laríngea adulto.

Localización anatómica	Pacientes con Papilomatosis laríngea Juvenil					Pacientes con Papilomatosis Laríngea Adulto				
	Presente	Porcentaje	Ausente	Porcentaje	Total de PX	Presente	Porcentaje	Ausente	Porcentaje	Total de PX.
Un subsitio										
Dos o más subsitios										
TOTAL										

OBJETIVO No.4 Enunciar el número de intervenciones quirúrgicas desde el diagnóstico hasta la actualidad.

TABLA 4.1. Total de intervenciones quirúrgicas en pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea y su relación con el sexo.

No de Intervenciones Quirúrgicas	SEXO MASCULINO	PORCENTAJE	SEXO FEMENINO	PORCENTAJE	TOTAL	%
1-10						
11-20						
21-30						
31-40						
41-50						
>50						
TOTAL						

TABLA 4.2. Total de intervenciones quirúrgicas en pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea y su relación con la edad de aparición

No de intervenciones Quirúrgicas	Papilomatosis Laríngea Juvenil ≤ 18 Años	Porcentaje	Papilomatosis Laríngea Adulto ≥ 18 Años	Porcentaje
1-10				
11-20				
21-30				
31-40				
41-50				
>50				
TOTAL				

OBJETIVO No.5. Describir los genotipos de VPH más frecuentes en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

TABLA No.5.1. Tipos de genotipo y su relación con el total de pacientes.

Tipo de Serotipo	Número de Pacientes	Porcentaje
VPH tipo 6		
VPH tipo 11		
VPH tipo 6 y 11		
VPH tipo 16		
VPH tipo 18		
VPH tipo 6, 39,58,66*		
VPH tipo 11,31,66		
VPH tipo 6,11,39,66		
TOTAL		

TABLA No.5.2. Relación del sexo con riesgo del genotipo

Sexo	VPH Alto Grado	Porcentaje	VPH De Bajo Grado	Porcentaje
FEMENINO				
MASCULINO				
TOTAL				

TABLA No.5.3. Relación del promedio de número de intervenciones y el genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea

Genotipo	Número de Pacientes	%	Numero intervenciones	Promedio de número de intervenciones
6				
11				
6 y 11				
6, 11 y VPH alto grado				

Tabla No.5.4. Relación de genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea y la edad de aparición.

Genotipo	Papilomatosis Laríngea juvenil ≤18 años	Porcentaje	Papilomatosis Laríngea ≥18 años	Porcentaje
6				
11				
6 y 11				
6 y/o 11 y Genotipo alto grado				
TOTAL				

Tabla No.5.5. Relación de genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea y la localización anatómica de lesiones papilomatosas.

Localización anatómica de lesión	Genotipo 6	%	Genotipo 11	%	Genotipo 6 y 11	%	Genotipo 6 y/o 11, y Genotipos de alto grado	%
Un subsitio								
Dos o más subsitios								
Total								

Anexo No. 2. TABLAS.

OBJETIVO No. 1. Identificar las constantes biológicas de los pacientes en estudio.

TABLA 1.1. Relación de Pacientes con su Grupo etario al diagnóstico Papilomatosis Laríngea

GRUPO ETARIO	TOTAL DE PACIENTES	PORCENTAJE
1- 10 años	13	55%
11-20 años	2	8%
21-30 años	0	0
31-40 años	2	8%
41-50 años	0	0
51-60 años	5	21%
61 años o más	2	8%
TOTAL	24	100%

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA 1.2 Relación de Pacientes con Papilomatosis Laríngea con el Sexo.

SEXO	TOTAL DE PACIENTES	PORCENTAJE
FEMENINO	11	46%
MASCULINO	13	54%
TOTAL	24	100%

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA 1.3 Relación del sexo de Pacientes al diagnóstico de Papilomatosis Laríngea

PAPILOMATOSIS LARÍNGEA JUVENIL ≤18 AÑOS		PORCENTAJE	PAPILOMATOSIS LARÍNGEA ADULTO ≥18 AÑOS		PORCENTAJE
FEMENINO	8	33%	FEMENINO	3	12%
MASCULINO	7	30%	MASCULINO	6	25%
TOTAL	15	63%	TOTAL	9	37%

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA 1.4 Relación de pacientes con Papilomatosis Laríngea con su procedencia

PROCEDENCIA	TOTAL DE PACIENTES	PORCENTAJE
URBANO	10	42%
RURAL	14	58%
TOTAL	24	100%

Fuente: Ficha de recolección de datos

OBJETIVO No.2. Mencionar los criterios clínicos al diagnóstico de pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

TABLA 2.1. Relación de pacientes con Papilomatosis laríngea y síntomas al diagnóstico

Criterios Clínicos	Presentes	Porcentaje	Ausente	Porcentaje
1.Disfonía Crónica	24	100%	0	0
2.Disnea	16	67%	8	33%
3.Estridor	7	29%	17	71%

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA 2.2. Relación de los síntomas al Diagnóstico de Pacientes con Papilomatosis Laríngea Juvenil y Adulto

Criterios clínicos	Papilomatosis laríngea juvenil ≤18 años					Papilomatosis laríngea adulto ≥18 años				
	presente	porcentaje	Ausente	ausente	Total de casos/100%	presente	porcentaje	ausente	porcentaje	Total de casos
Disfonía crónica	15	100%	0	0	15 paciente/100%	9	100%	0	0	9 paciente
Disnea	12	80%	3	20%	15 pacientes/ 100%	4	44%	5	56%	9paciente
Estridor	4	27%	11	73%	11 pacientes/ 100%	3	33%	6	67%	9 paciente

Fuente: Ficha de recolección de datos

OBJETIVO No.3. Describir la localización anatómica de las lesiones papilomatosas al diagnóstico.

TABLA 3.1. Relación de la localización anatómica de lesiones en pacientes con Papilomatosis laríngea

Localización Anatómica	PRESENTES	PORCENTAJE	AUSENTES	PORCENTAJE	Total de Paciente
a. Epiglotis	2	8%	22	92%	24 px
b. Aritenoides	1	4%	23	96%	24 px
c. Pliegues Aritenoepigloticos	0	0	24	100%	24 px
d. Bandas Ventriculares	10	42%	14	58%	24 px
e. Cuerdas Vocales	22	92%	2	8%	24 px
f. Comisura Anterior/Posterior	12	50%	12	50%	24 px
subglotis	1	4%	23	96%	24 px
h. Tráquea	0	0	24	100%	24 px

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA 3.2 Interpretar la Localización Anatómica según cantidad de subsitios afectados en Pacientes con Papilomatosis Laríngea juvenil y Papilomatosis laríngea adulto

Localización anatómica	Pacientes con Papilomatosis laríngea Juvenil					Pacientes con Papilomatosis Laríngea Adulto				
	Presente	Porcentaje	Ausente	Porcentaje	Total de PX	Presente	Porcentaje	Ausente	Porcentaje	Total de PX.
Un subsitio	5	21%	10	42%	15	2	8%	7	29%	9
Dos o más subsitios	10	42%	5	21%	15	7	29%	2	8%	9
TOTAL	15	63%	15	63%	15	9	37%	9	37%	9

Fuente: Ficha de recolección de datos

OBJETIVO No.4. Enunciar el número de intervenciones quirúrgicas desde el diagnóstico

TABLA 4.1. Total de intervenciones quirúrgicas en pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea y su relación con el sexo.

No de Intervenciones Quirúrgicas	SEXO MASCULINO	PORCENTAJE	SEXO FEMENINO	PORCENTAJE	TOTAL	%
1-10	10	42%	3	13%	13	55%
11-20	0	0	1	4%	1	4%
21-30	1	4%	3	13%	4	17%
31-40	1	4%	1	4%	2	8%
41-50	0	0	0	0	0	-
>50	1	4%	3	13%	4	16%
TOTAL	13	54%	11	46%	24	100%

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA 4.2. Total de intervenciones quirúrgicas en pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea y su relación con la edad de aparición

No de intervenciones Quirúrgicas	Papilomatosis Laríngea Juvenil ≤ 18 Años	Porcentaje	Papilomatosis Laríngea Adulto ≥18 Años	Porcentaje
1-10	6	25%	7	30%
11-20	0	0	1	4%
21-30	2	8%	1	4%
31-40	2	8%	0	0
41-50	1	4%	0	0
>50	4	17%	0	0
TOTAL	15	62%	9	38%

Fuente: Ficha de recolección de datos

OBJETIVO No.5. Describir los genotipos de VPH más frecuentes en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

TABLA No.5.1. Tipos de Serotipo y su relación con el Total de Pacientes.

Tipo de Serotipo	Número de Pacientes	Porcentaje
VPH tipo 6	5	21%
VPH tipo 11	4	17%
VPH tipo 6 y 11	10	42%
VPH tipo 16	0	0
VPH tipo 18	0	0
VPH tipo 6, 39,58,66*	2	8%
VPH tipo 11,31,66	1	4%
VPH tipo 6,11,39,66	2	8%
TOTAL	24	100%

Fuente: Ficha de recolección de datos *Uno de los pacientes con Papilomatosis laríngea adulto se transformó en cáncer de células escamosas.

TABLA No.5.2. Relación del sexo con riesgo del genotipo

Sexo	VPH Alto Grado	Porcentaje	VPH De Bajo Grado	Porcentaje
FEMENINO	3	13%	8	33%
MASCULINO	2	8%	11	46%
TOTAL	5	21%	19	79%

Fuente: Ficha de recolección de datos

TABLA No.5.3. Relación del Promedio de número de intervenciones y el genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea

Genotipo	Número de Pacientes	%	Numero intervenciones	Promedio de número de intervenciones
6	5	21%	94	19
11	4	17%	42	11
6 y 11	10	42%	237	24
6, 11 y VPH alto grado	5	21%	229	46

Fuente: Ficha de recolección de datos

Tabla No.5.4. Relación de genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea y la edad de aparición.

Genotipo	Papilomatosis Laríngea juvenil ≤18 años	Porcentaje	Papilomatosis Laríngea ≥18 años	Porcentaje
6	3	13%	2	8%
11	2	8%	2	8%
6 y 11	7	29%	3	13%
6 y/o 11 y Genotipo alto grado	3	13%	2	8%
TOTAL	15	63%	9	37%

Fuente: Ficha de recolección de datos

Tabla No.5.5. Relación de genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea y la localización anatómica de lesiones papilomatosas.

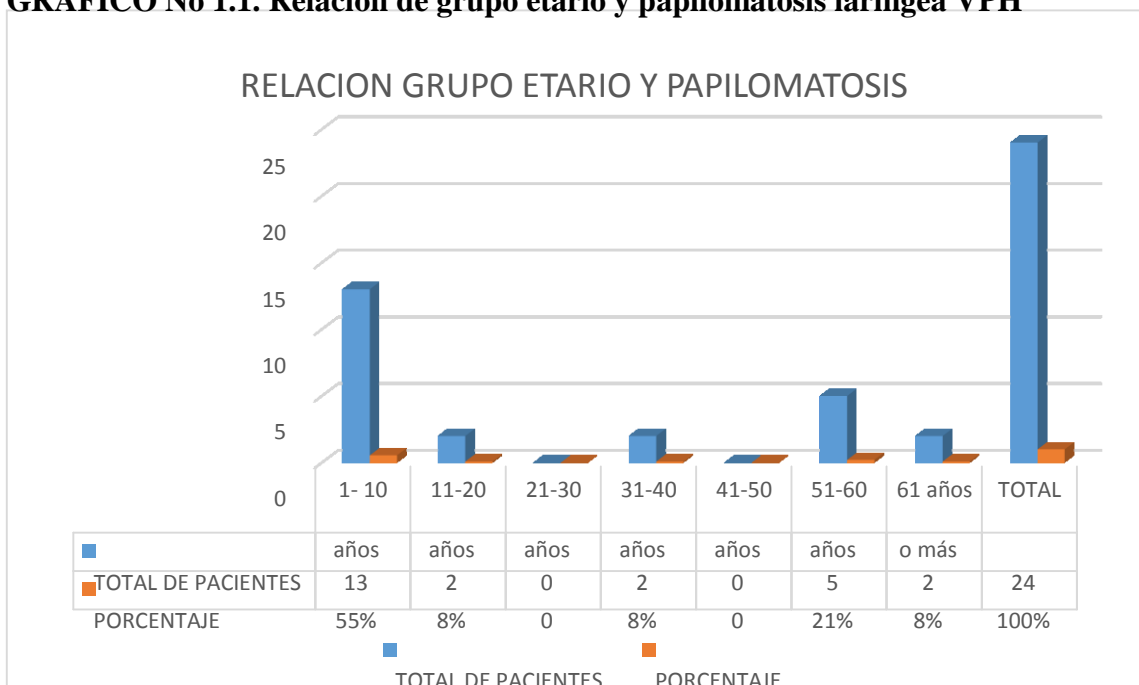
Localización anatómica de lesión	Genotipo 6	%	Genotipo 11	%	Genotipo 6 y 11	%	Genotipo 6 y/o 11, y Genotipos de alto grado	%
Un subsitio	3	12%	3	13%	0	0	0	0
Dos o más subsitios	2	8%	1	4%	10	42%	5	21%
Total	5	20%	4	17%	10	42%	5	21%

Fuente: Ficha de recolección de datos

Anexo No. 3. Gráficos

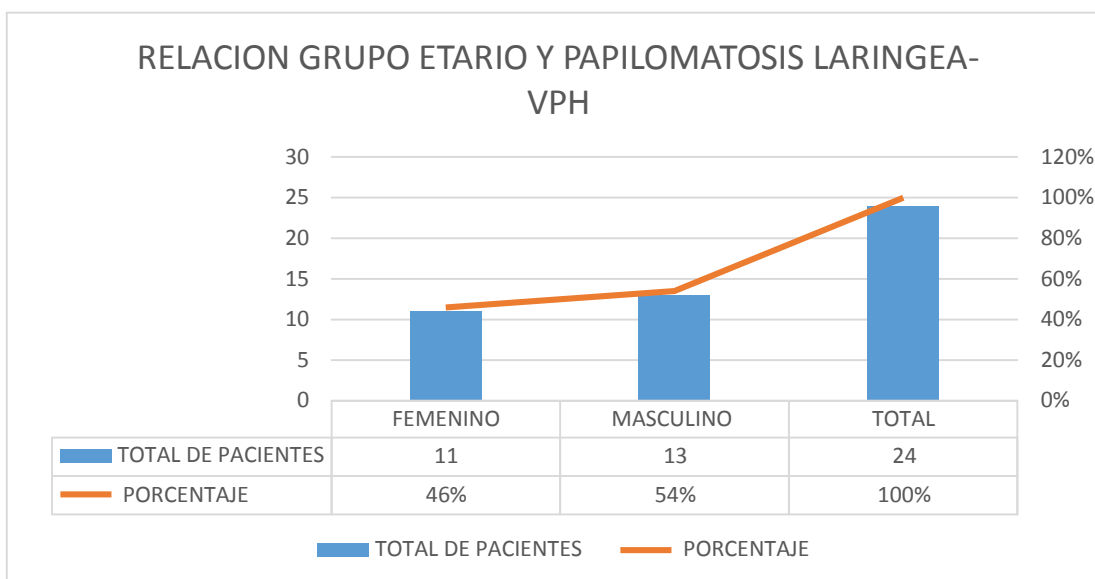
OBJETIVO No. 1. Identificar las constantes biológicas de los pacientes en estudio.

GRAFICO No 1.1. Relación de grupo etario y papilomatosis laríngea VPH



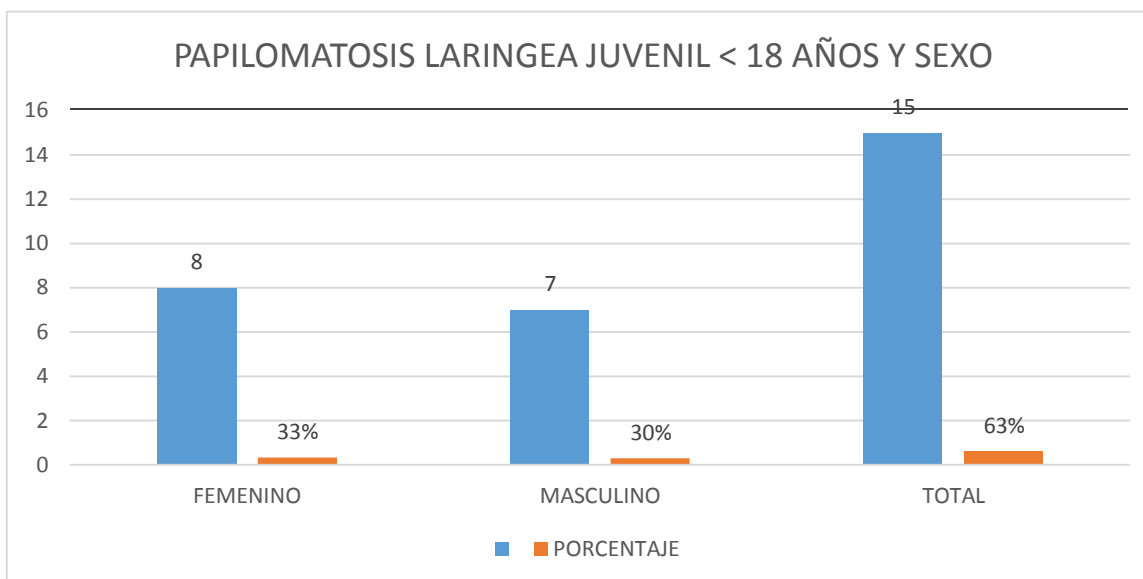
Fuente. Tabla 1.1

GRAFICO No 1.2. Relación de sexo y Papilomatosis laríngea



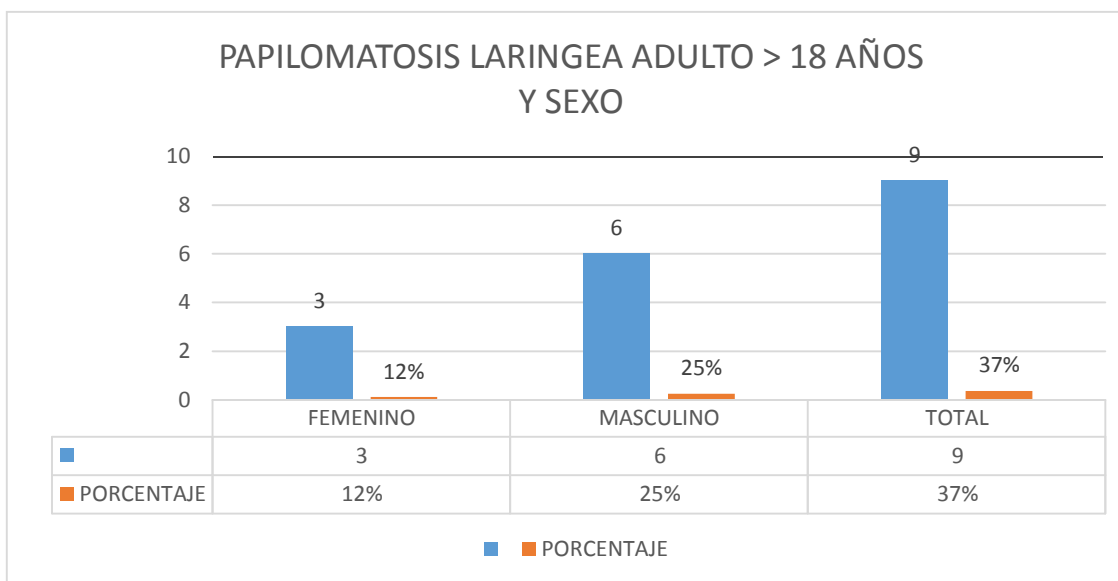
Fuente Tabla 1.2

GRAFICO No 1.3 Relación del sexo de pacientes al diagnóstico de Papilomatosis laríngea juvenil <18 años.



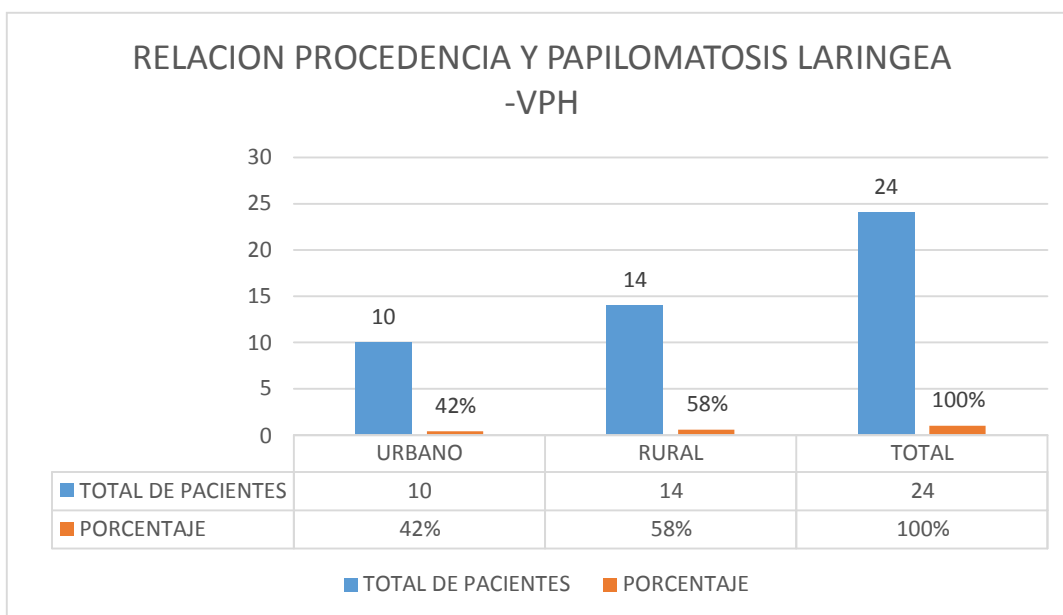
Fuente Tabla 1.3

GRAFICO No1.4. Relación de sexo con Papilomatosis laríngea del adulto > 18 años.



Fuente Tabla 1.3

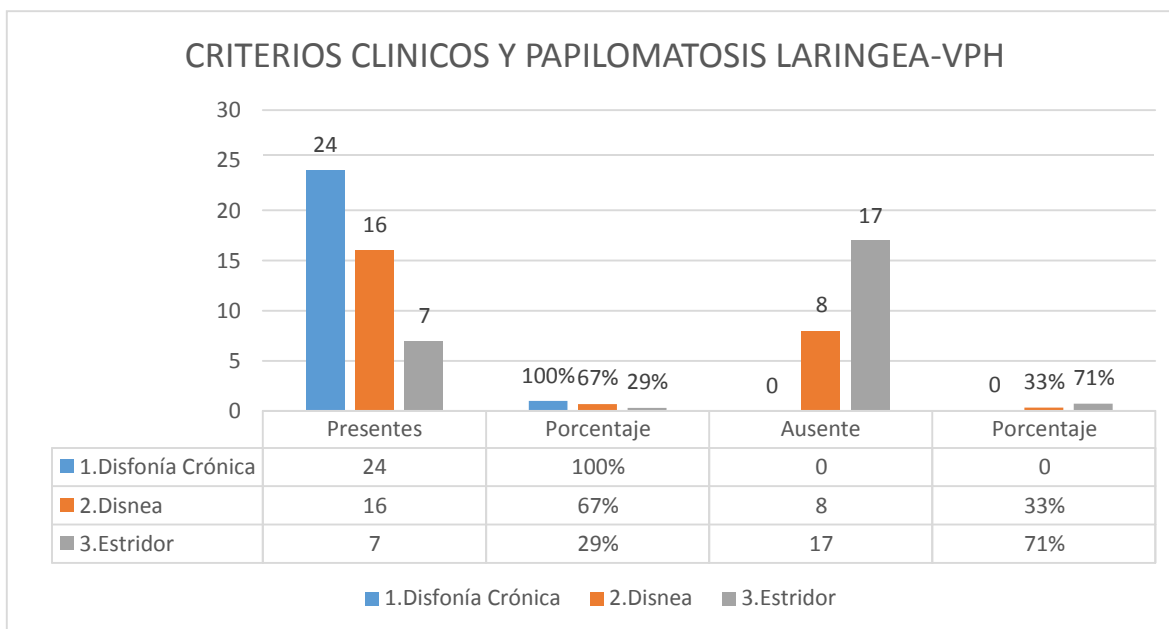
GRAFICO No.5 Relación de pacientes con Papilomatosis laríngea con su procedencia



Fuente Tabla 1.4

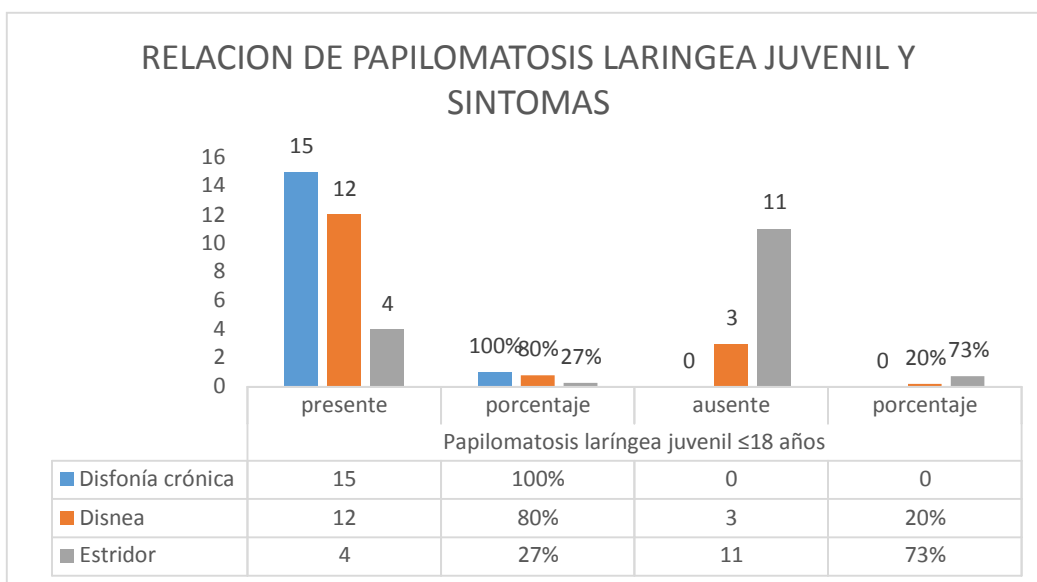
OBJETIVO No.2. Mencionar los criterios clínicos al diagnóstico de pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

GRAFICO 2.1 Relación de pacientes con Papilomatosis laríngea y síntomas al diagnóstico



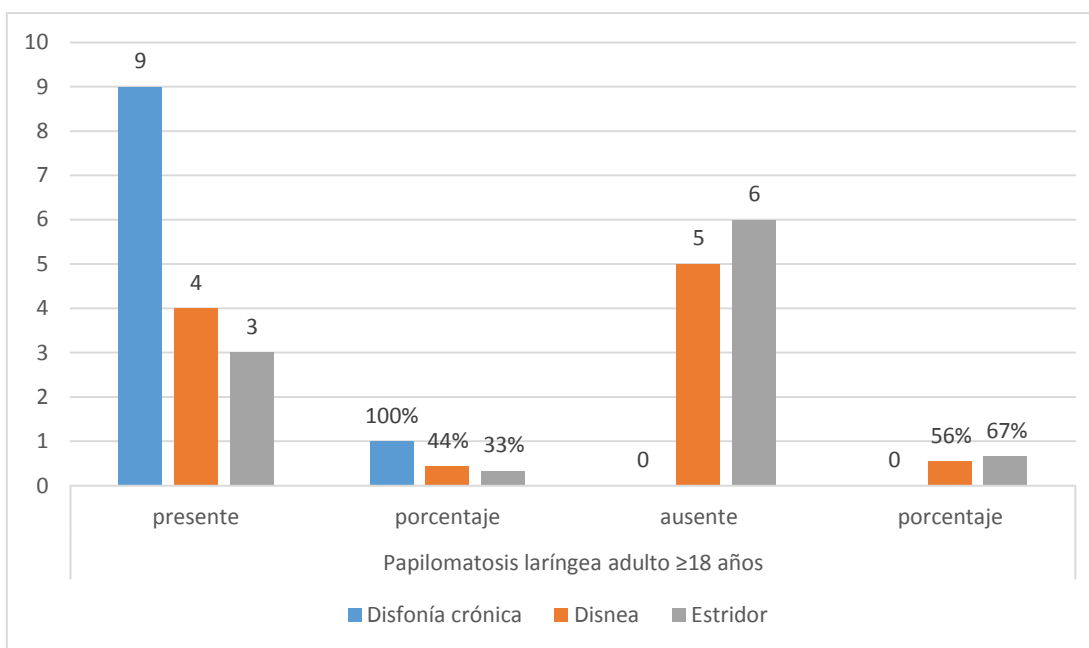
Fuente Tabla 2.1

GRAFICO 2.2 Relación de Papilomatosis laríngea juvenil y síntomas



Fuente Tabla 2.2

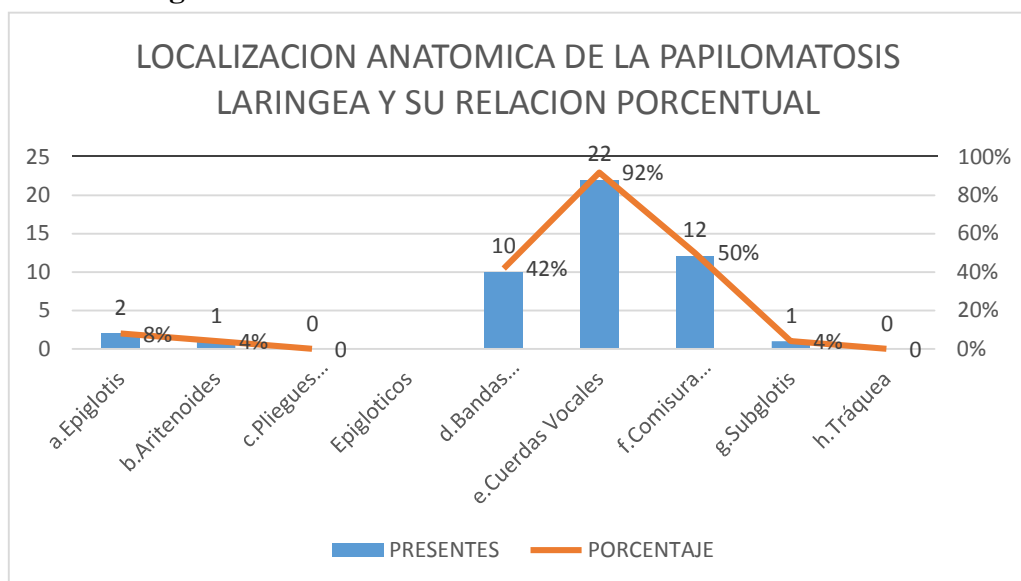
GRAFICO 2.3 Relación de Papilomatosis laríngea adulto VPH y síntomas.



Fuente Tabla 2.3

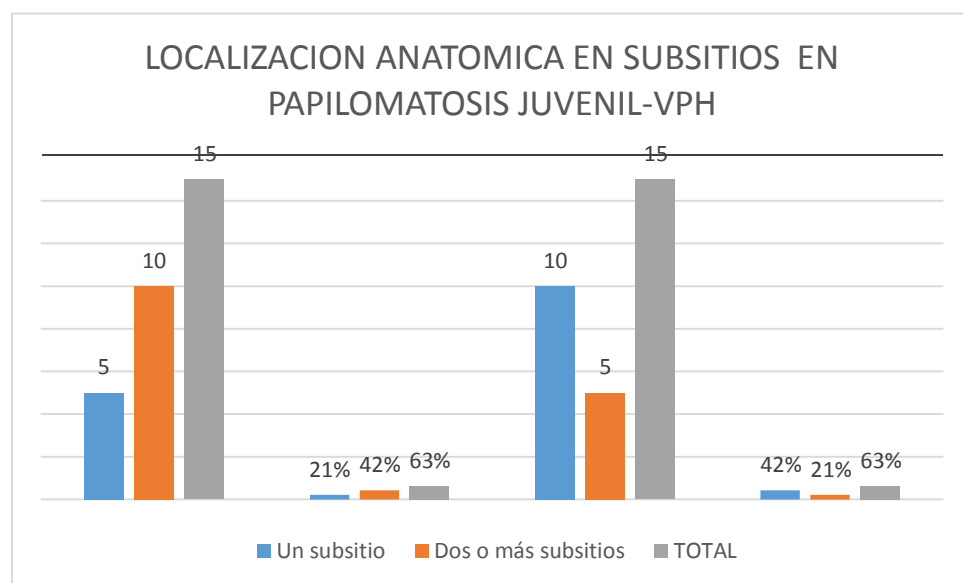
OBJETIVO No.3. Describir la localización anatómica de las lesiones papilomatosas al diagnóstico.

GRAFICO 3.1 Relación de la localización anatómica de lesiones papilomatosas en pacientes con papilomatosis laríngea.



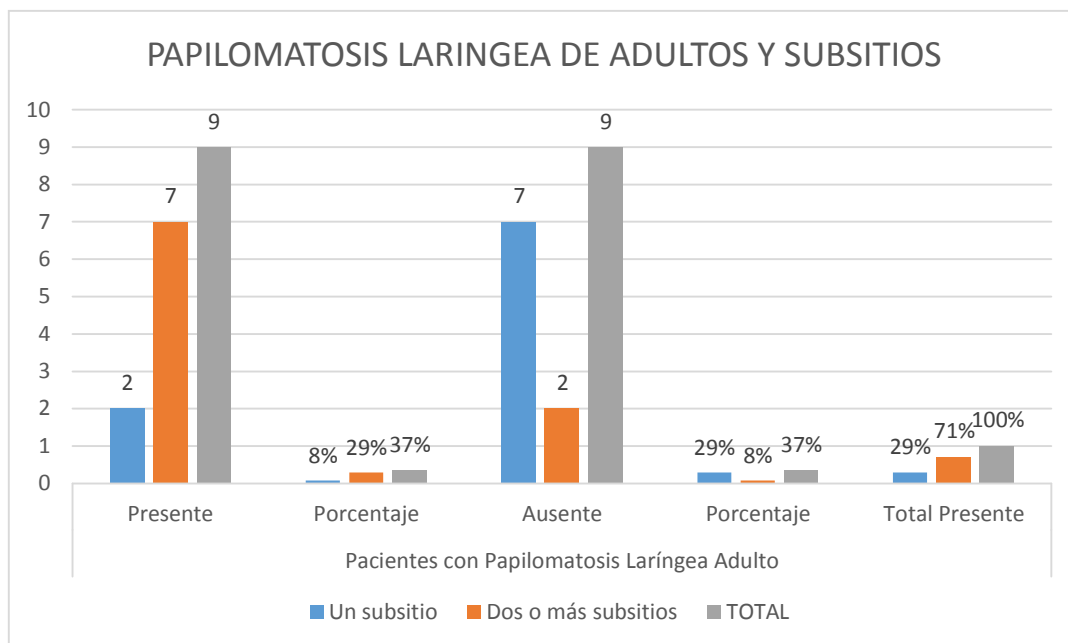
Fuente Tabla 3.1

GRAFICO 3.2 Interpretar la localización anatómica según cantidad de subsitios afectados en pacientes con Papilomatosis laríngea juvenil



Fuente Tabla 3.2

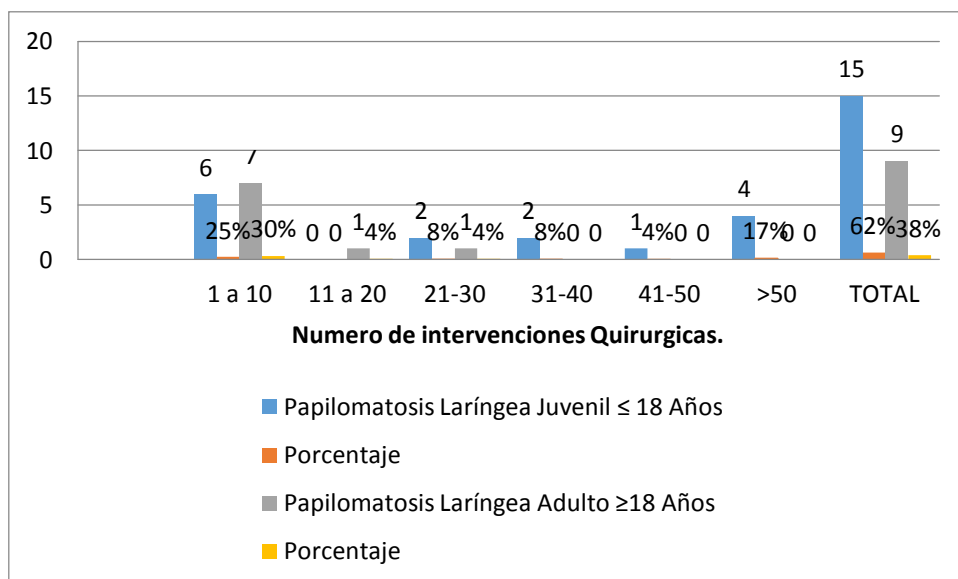
GRAFICO 3.3 Localización anatómica según cantidad de subsitios afectados en Pacientes con Papilomatosis laríngea adulto



Fuente Tabla 3.2

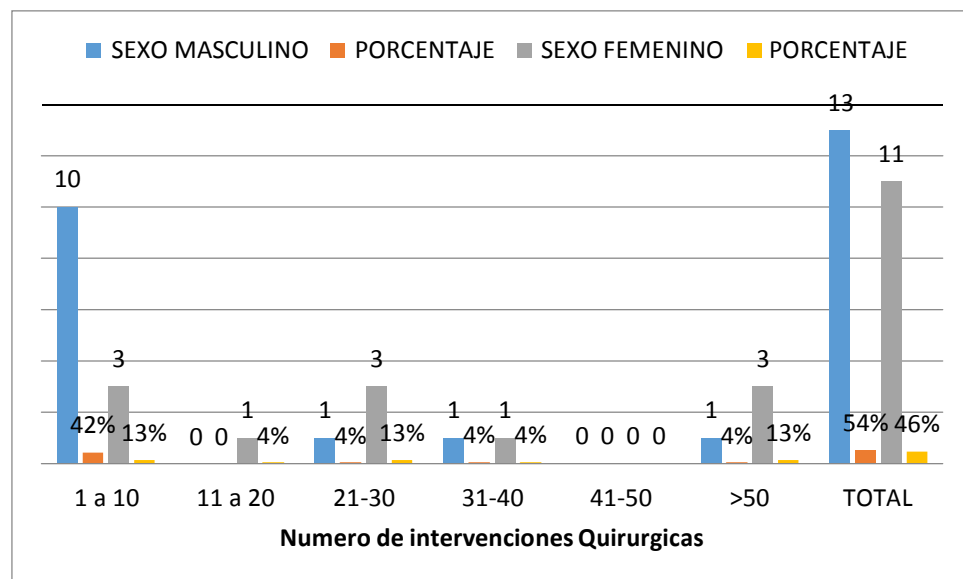
OBJETIVO No.4 Enunciar el número de intervenciones quirúrgicas desde el diagnostico hasta la actualidad.

GRAFICO 4.1. Total de intervenciones quirúrgicas en pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea y su relación con el sexo.



Fuente Tabla 4.1

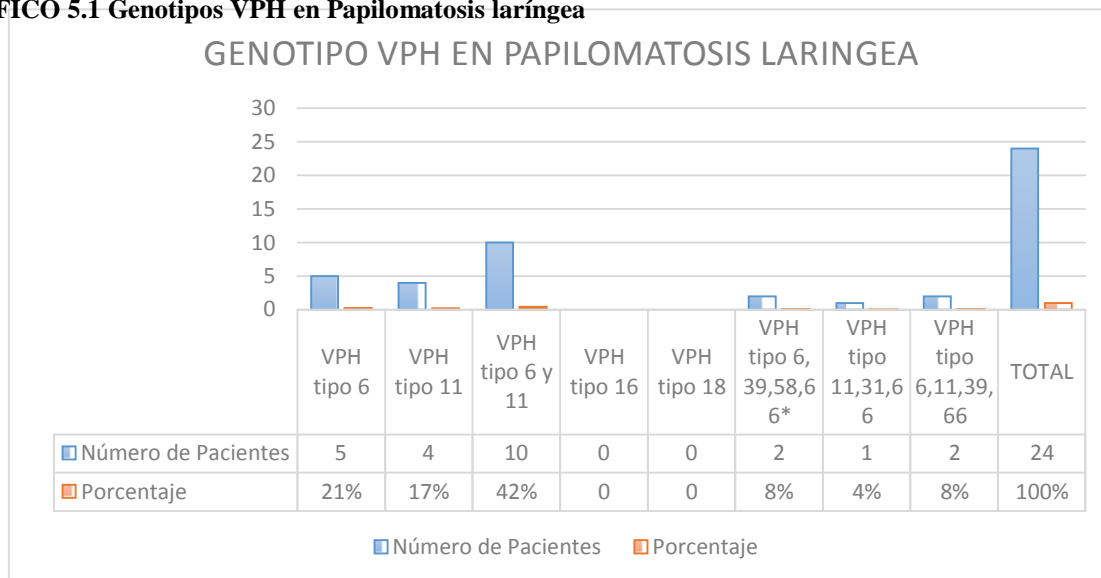
GRAFICO 4.2. Total de intervenciones quirúrgicas en pacientes diagnosticados con Papilomatosis laríngea y su relación con la edad de aparición



Fuente Tabla 4.2

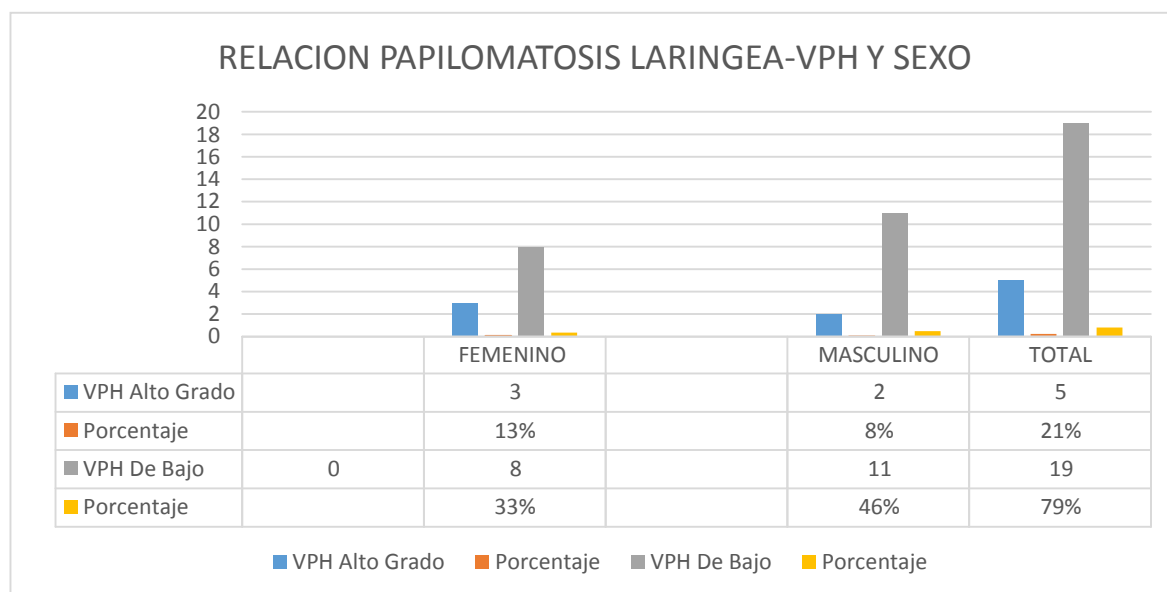
OBJETIVO No.5. Describir los genotipos de VPH más frecuentes en pacientes con Papilomatosis laríngea recurrente.

GRAFICO 5.1 Genotipos VPH en Papilomatosis laríngea



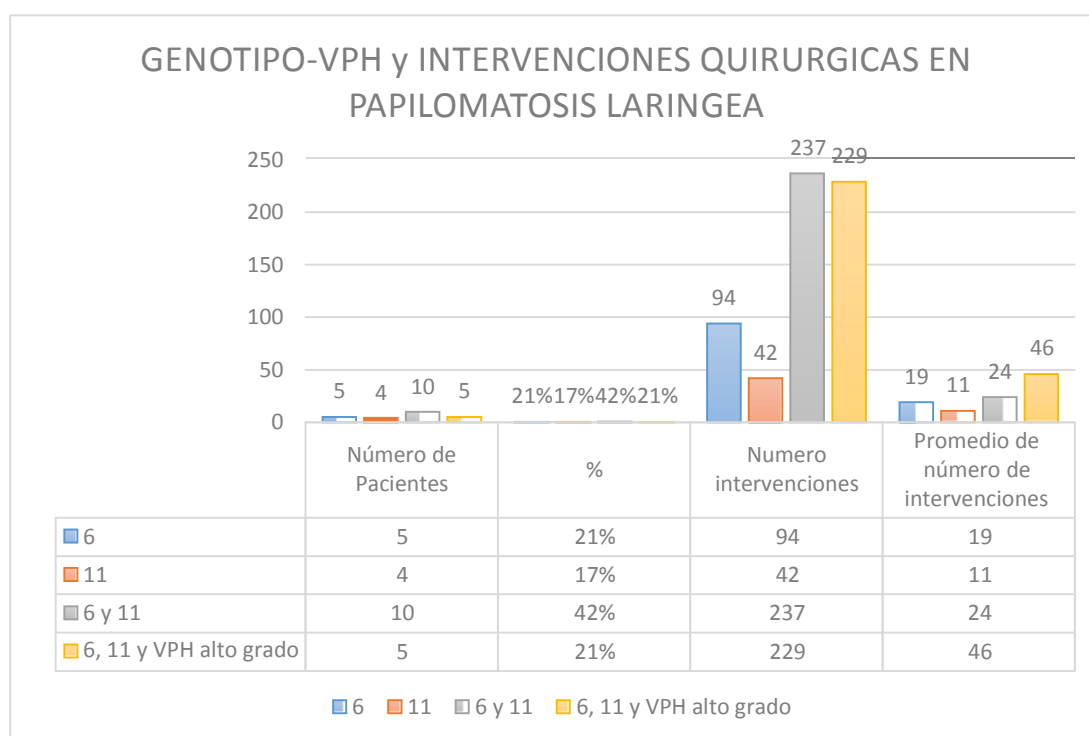
Fuente Tabla 5.1

GRAFICO 5.2 Relación del sexo con riesgo del genotipo VPH en Papilomatosis laríngea



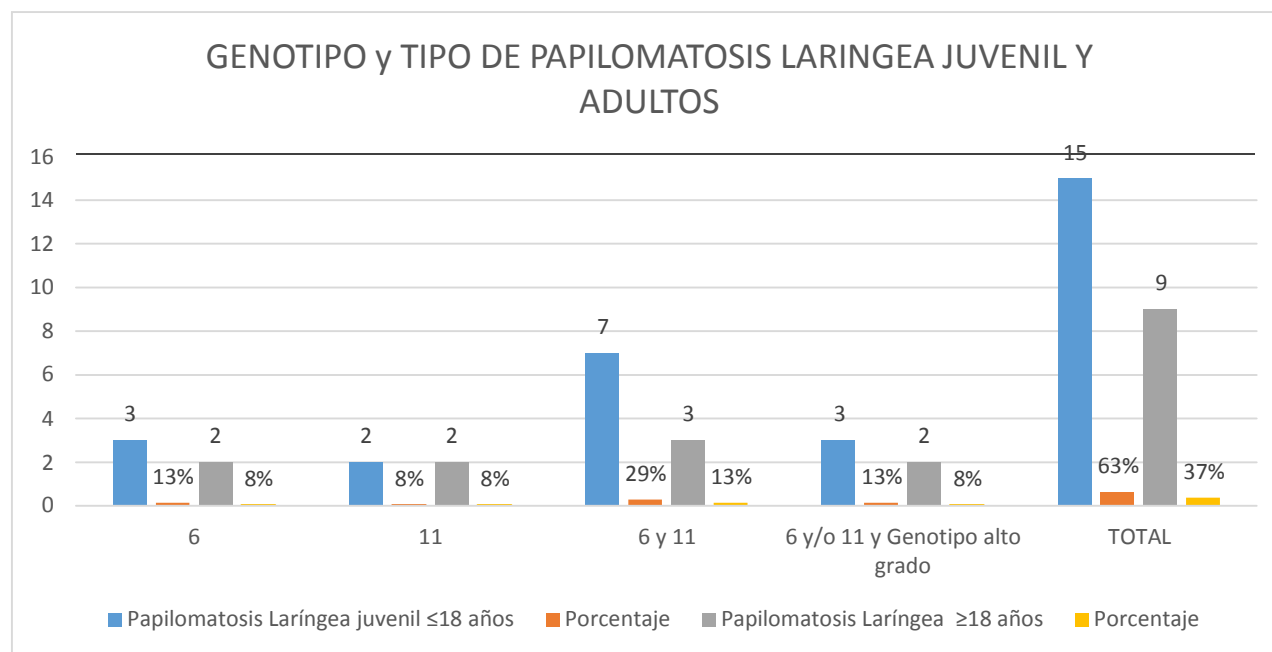
Fuente Tabla 5.2

GRAFICO 5.3. Relación del Promedio de número de intervenciones y el genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea



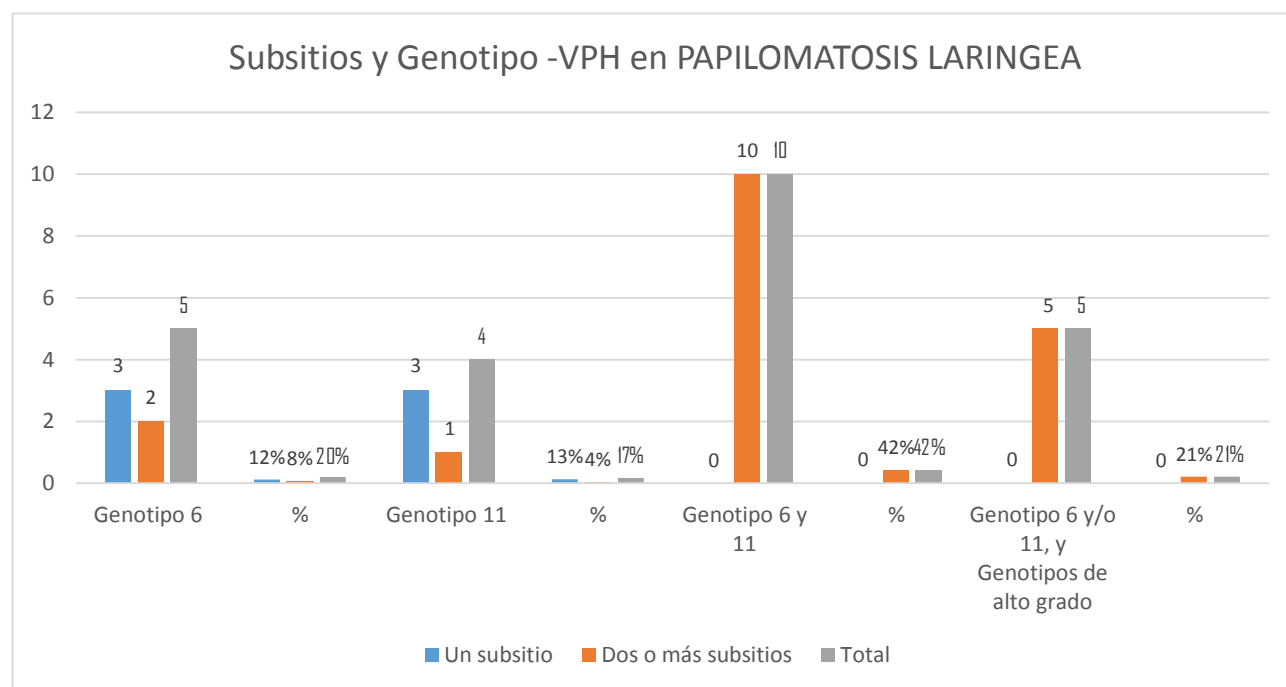
Fuente Tabla 5.3

GRAFICO 5.4. Relación de genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea y la edad de aparición.



Fuente Tabla 5.4

GRAFICO 5.5 Relación de genotipo de pacientes con Papilomatosis laríngea y la localización anatómica de lesiones papilomatosas.



Fuente Tabla 5.5 1

Anexo No 4. Técnica de extracción de ADN / PCR en pacientes con Papilomatosis laríngea del hospital Antonio Lenin Fonseca.

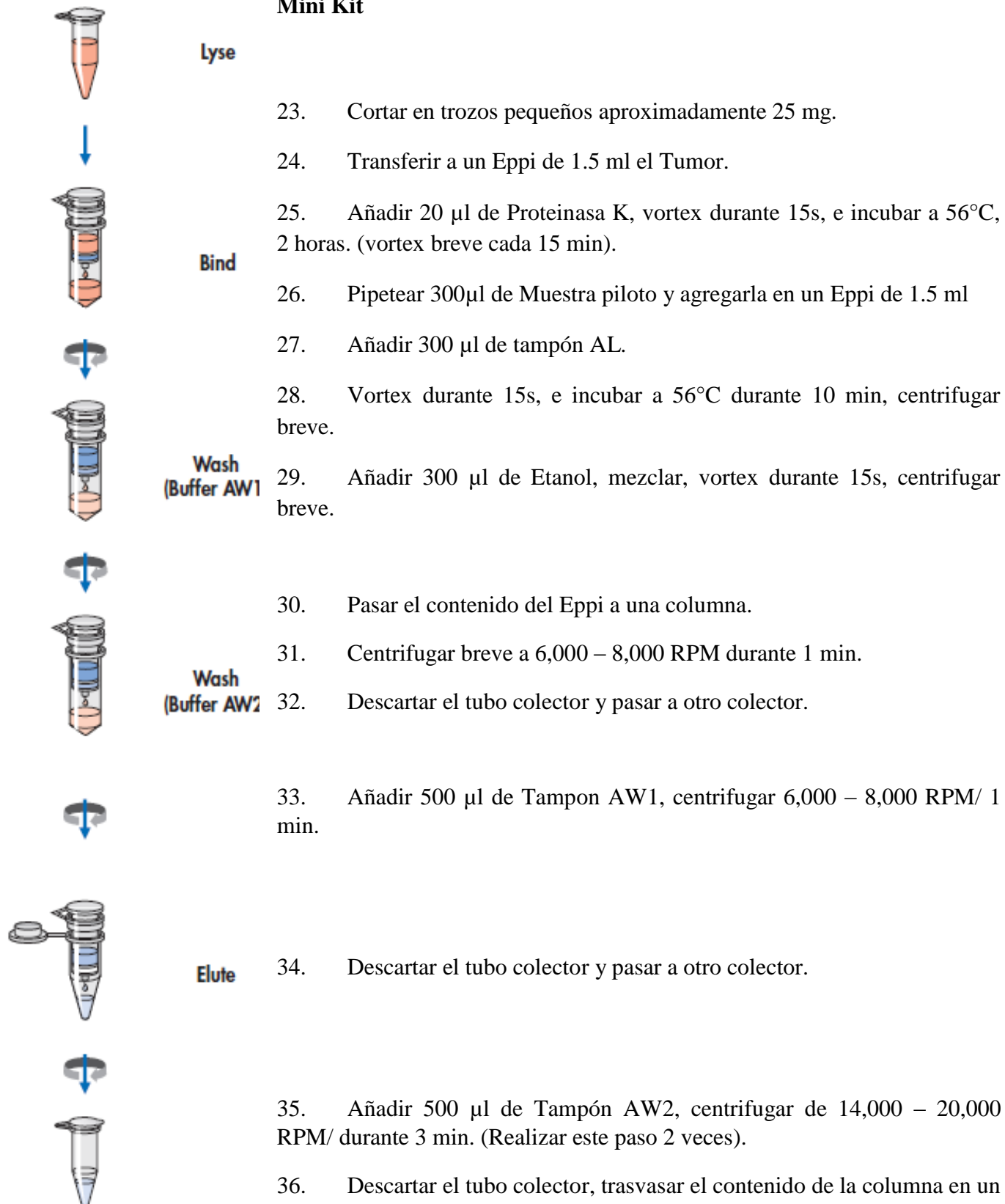
1. Extracción de ADN en muestras de Tejido Laríngeo.

Este se llevó a cabo en el laboratorio de Biología Molecular del POLISAL en la Universidad Autónoma de Nicaragua. La extracción de ADN se realizó a partir de 25mg aproximadamente de tejido laríngeo, mediante la conservación en TWEEN/20 + TBS 1X. se procedió a utilizar únicamente 300ul de solución madre, mediante la utilización de **QIAamp® DNA Mini Kit**, siguiendo el protocolo DNA purification from Tissue, indicados en el manual QIAamp® DNA Mini Kit and QIAamp DNA Blood Mini Kit Handbook.

2. Materiales

2. Etanol al 100%
3. PBS 1X + TWEEN20
4. Tissue Protocol (QIAamp DNA Mini Kit only) (para producir ADN copia)
5. Kit para PCR (Buffers, enhancer, dNTPs, Enzima-taq, H₂O) para realizar mix PCR.
6. Primers específicos para la detección de genotipos HPV 6,11.
7. Agarosa en polvo
8. Buffer TBE al 1x
9. Bromuro de etidio.
10. Guantes de nitrilo
11. Eppendorf de 1.5 ml nuevos y autoclaveados (exclusivos para extracción de ADN)
12. Eppendorf de 0.5 ml nuevos y autoclaveados (exclusivos para preparar master mix)
13. Eppendorf de 0.2 ml nuevos y autoclaveados (exclusivos para PCR)
14. Micropipetas y puntas para volúmenes de 0.5 – 10 ul
15. Micropipetas y puntas para volúmenes de 2 – 20 ul
16. Micropipetas y puntas para volúmenes de 100 – 1000 ul
17. Centrifugadora refrigerada (4°C)
18. Vortex
19. Termociclador para PCR.
20. Cámara electroforética
21. Fuente de poder para electroforesis
22. Transiluminador UV

Protocolo de extracción de ADN genómico en **TEJIDO** QIAamp® DNA Mini Kit



Eppi nuevo.

37. Agregar 30 µl de Tampón AE.
38. Dejar reposar 5 min.
39. Centrifugar de 6,000-8,000 RPM/ 1 min.
40. Cuantificar ADN en NanoDrop.
41. Almacenar ADN a -20°

1. Detección de los genotipos en lesiones papilomatosas de laringe por virus de papiloma humano.

42. ADN genómico.
43. Muestra: Tumor.

Acciones que se tomaron antes de comenzar:

44. Equilibrar la muestra a temperatura ambiente (15 – 25° C)
45. Bloque térmico a 56° - 70° C
46. Equilibrar buffer AE a temperatura de 56° C
47. Asegúrese de que los Buffers AW1 Y AW2 han sido preparados correctamente.
48. Si se ha formado un precipitado en el tampón ATL o el Tampón AL, disuelva incubando a 56°C.
49. Todos los pasos de centrifugación de realizarse a temperatura ambiente (15- 25° C)
50. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas de las muestras almacenadas, ya que esto conduce a la reducción del tamaño de ADN.

1. Cuantificación de ADN.

El ADN se cuantificará y se realizará la medición de la pureza (Abs 260-280, 1.8-2.0) Mediante el uso del Espectrofotómetro NanoDrop lite Thermo Scientific. Para posteriores análisis donde el material genético se almacenará a -20°C.

2. Mezcla de reacción.

La amplificación por PCR se realizara en un volumen final de 50ul utilizando 250ng/dl de ADN, 10ul Enhancer, 5ul buffer s, 1ul dNTPs, 1ul primer 11 Forward, 1ul primer 11 Reverse, 1ul primer 6 Foward, 1ul primer Reverse, 1ul Taq polimerasa.

3. Amplificación mediante PCR punto final.

Secuencia de Oligonucleótidos:

PP6 forward: 5'GCT AAA GGT CCT GTT TCG AGG CGG CTA-3'

PP6 Reverse: 5'GGC AGC GAC CCT TCC ACG TAC AAT-3'

PP11 forward: 5'GCG TGT TTT GCA GGA ATG CAC TGA C-3'

PP11 Reverse: 5' TGC GTC TTG TTT GTC CAC CTT GTC C-3'

Albúmina forward: 5' GCC CTC TGC TAA CAA GCT GTA C-3'

Albúmina Reverse: 5' GCC CTA AAA AGA AAA TCG CCA ATC-

Anexo No.5 Resultados de detección de genotipo mediante PCR elaborado en Laboratorio Biología Molecular POLISAL UNANA-Managua



**UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA**
UNAN - MANAGUA

**INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD
"LUIS FELIPE MONCADA"**



CÓDIGO PACIENTE	EXPEDIENTE	EDAD	Nº CIRUGÍAS	Concentraciones	GENOTIPOS
001	370452	9	29	213ng/ul	11
002	133769	19	128	142 ng/ul	6,11,39,66
003	500861	60	7	-----	11
004	524487	10	9	-----	6,11
005	384950	10	33	604/622 ng/ul	6,11
006	271660	68	30	-----	6,11
007	426620	9	53	96 ng/ul	6,11
008	435837	55	5	-----	6,11
009	234600	54	61	216/446 ng/ul	6
010	532971	58	6	460/489 ng/ul	6
011	386512	70	10	532 ng/ul	6,11
012	553738	24	10	355 ng/ul	6
013	488146	39	12	35 ng/ul	6
014	557364	65	6	223 ng/ul	6,39,58,66
015	454055	14	5	265 ng/ul	6
016	011400	37	14	205/207 ng/ul	6,39,58,66
017	441853	7	26	514/614 ng/ul	11,31,66
018	390261	10	4	1125 ng/ul	11
019	564002	56	2	564/856 ng/ul	11
020	509308	3	10	122 ng/ul	6,11
021	391829	42	9	325 ng/ul	6,11,39,66
022	565516	42	21	217 ng/ul	6,11
023	293668	14	61	165/114 ng/ul	6,11
024	525588	17	10	234 ng/ul	6,11

Anexo No.6 Registro fotográfico de resultados de detección de genotipo mediante PCR elaborado en Laboratorio Biología Molecular POLISAL UNAN-Managua

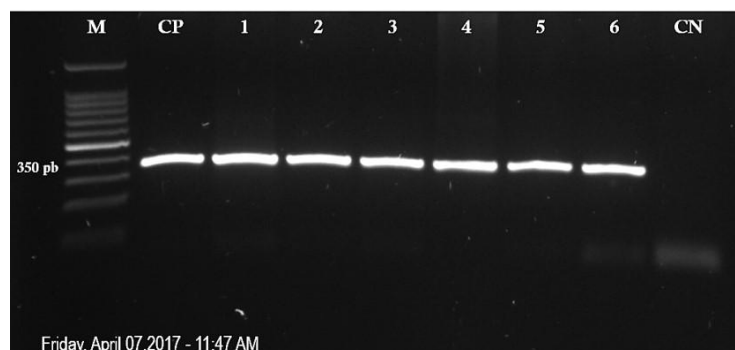


Figura No. 4

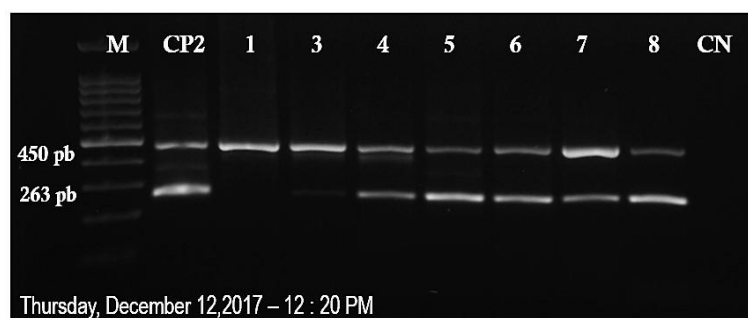


Figura No. 5

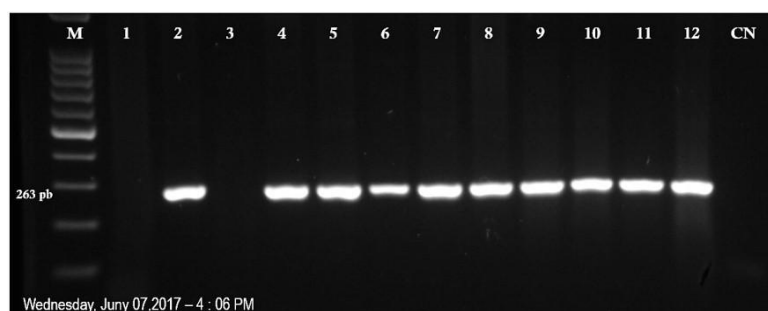


Figura No. 6



Figura No. 7 1

Anexo No. 8 Procedimiento de Microcirugía laríngea en paciente con Papilomatosis Laríngea recurrente

